

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2007 年 2 月 8 日 (08.02.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/015569 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 33/574 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01) G01N 33/15 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)

(74) 代理人: 小林 浩, 外(KOBAYASHI, Hiroshi et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目 8 番 7 号 福岡ビル 9 階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2006/315563

(22) 国際出願日: 2006 年 8 月 1 日 (01.08.2006)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2005-223440 2005 年 8 月 1 日 (01.08.2005) JP

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社 (EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1128088 東京都文京区小石川四丁目 6 番 10 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 松井 順二 (MAT-SUI, Junji) [JP/JP]; 〒3002635 茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP). 仙波 太郎 (SEMBA, Taro) [JP/JP]; 〒3002635 茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD FOR PREDICTION OF THE EFFICACY OF VASCULARIZATION INHIBITOR

(54) 発明の名称: 血管新生阻害物質の効果を予測する方法

(57) Abstract: Disclosed is a method for the prediction of the efficacy of a vascularization inhibitor. In the method, the anti-tumor effect of a vascularization inhibitor can be predicted by measuring the number of blood vessels surrounded by pericytes in a tumor and using the measurement value as a measure for the anti-tumor effect.

(57) 要約: 本発明の課題は、血管新生阻害物質の効果を予測する方法を見出すことにある。本発明により、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより予測することができる。

WO 2007/015569 A1

明 細 書

血管新生阻害物質の効果を予測する方法

5 技術分野

本発明は、血管新生阻害物質、例えば、血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor（以下、「VEGF」と称する場合がある））阻害活性を有する物質（以下、「VEGF 阻害物質」と称する場合がある）の効果を予測する新規方法に関するものである。

10

背景技術

臨床試験において、血管新生阻害物質は、抗腫瘍剤として有用であることが明らかにされている。例えば、血管新生因子の中で重要な役割を担っている VEGF に対する中和抗体製剤であるベバシズマブは、臨床試験において、大腸癌に対して抗腫瘍効果を示したことが報告されている⁽¹⁾。

15

また、血管新生阻害物質として、4-（3-クロロ-4-（シクロプロピルアミノカルボニル）アミノフェノキシ）-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドが知られている^(2および3)。

ところで、血管新生阻害物質の効果を判定すること、血管新生阻害物質の効果を示す濃度を決定すること、血管新生阻害物質の効果を投与前に予測することは、血管新生阻害物質を用いた治療を効率よく進め、患者の QOL 向上に貢献するために、非常に有用である⁽⁴⁾。前二者については現在、数多くの研究がなされている⁽⁵⁾。具体的には、Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (DCE-MRI), Positron Emission Tomography (PET), Interstitial Fluid Pressure, serum VEGF などの方法が知られており、中でも DCE-MRI は、血管新生阻害物質の効果を判定する方法として有効であるとされつつある⁽⁶⁾。

20

25

一方で、血管新生阻害物質の効果を投与前に予測することは、治療を受ける患者にとって無効な薬剤の投与の回避、副作用の軽減などを可能とするために、非

常に有益であり、かつ重要事項である⁽⁴⁾。しかしながら、血管新生阻害物質の効果を投与前に予測する方法については、未だ有効な方法は、見つかっていない。

参考文献

- (1) Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer, N Engl J Med. 2004, 350, 2335-42
- (2) 国際公開第 0 2 / 3 2 8 7 2 号パンフレット
- (3) 国際公開第 2 0 0 4 / 0 8 0 4 6 2 号パンフレット
- (4) Inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in cancer causes loss of endothelial fenestrations, regression of tumor vessels, and appearance of basement membrane ghosts. Am J Pathol., 2004, 165, 35-52
- (5) Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivasculature effects in human rectal cancer, Nature Medicine, 2004, 10, 145-147
- (6) Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a biomarker for the pharmacological response of PTK787/ZK 222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, in patients with advanced colorectal cancer and liver metastases: results from two phase I studies., J Clin Oncol., 2003, 21, 3955-64.

発明の開示

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、その解決しようとする課題は、血管新生阻害物質の効果を予測する方法を見出すことにある。

本発明者らは、上記課題を解決するため、鋭意検討を重ねた結果、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数と相関することを初めて見出した。そして、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより予測することができることを見出した。

すなわち本発明は、以下に関する。

(1) 血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法であって、

腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程と、

周皮細胞で覆われた血管数を指標として、癌患者が血管新生阻害物質に対し

5 て高感受性であるか否かを判断する工程と、

を含む、前記方法。

(1) に記載の方法において、腫瘍中の血管数を測定する工程と、腫瘍中の血管数に対する腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の比率を指標として、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程とをさらに含ん

10 でいてもよい。

(2) 血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法であって、

腫瘍中の血管数および腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程と、

腫瘍中の血管数に対する腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の比率を指標

15 として、当該癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程と、

を含む、前記方法。

(1) または (2) に記載の方法において、腫瘍は、癌患者から採取されたものを使用することができる。

20 (1) または (2) に記載の方法において、周皮細胞で覆われた血管数の測定は、 α -SMA、デスミン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4、カルポニン、カルデスモンおよび PDGF レセプターからなる群から選択される少なくとも一つの発現を指標に行うことができ、中でも、 α -SMA および/またはデスミンの発現を指標に行うことが好ましい。周皮細胞で覆われた血管数の測定は、例えば、免疫化学的方法、in situ ハイブリダイゼーションまたは定量的 RT-PCR により行う

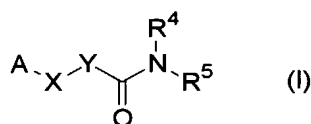
25 ことができる。

また、(1) または (2) に記載の方法において、腫瘍中の血管数の測定は、CD31、vWF、CD34、CD105、CXCR4、CD146、CD133、KDR および KIT からなる群から選択さ

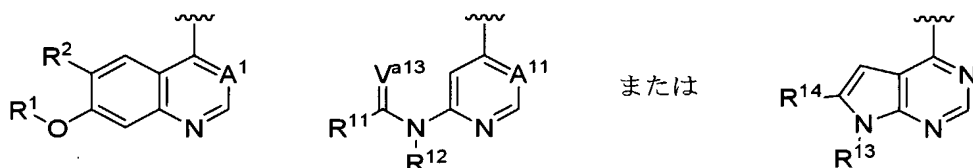
れる少なくとも一つの発現を指標に行うことができ、中でも、CD31 の発現を指標に行うことが好ましい。腫瘍中の血管数の測定は、例えば、免疫化学的方法、in situ ハイブリダイゼーションまたは定量的 RT-PCR により行うことができる。

(1) または (2) に記載の方法において、血管新生阻害物質は、例えば VEGF レセプターキナーゼ阻害物質である。VEGF レセプターキナーゼ阻害物質の例を以下に示す。

一般式 (I)



[式 (I) 中、A は、式



(式中、 R^1 は、式 $-\text{V}^1-\text{V}^2-\text{V}^3$ (式中、 V^1 は置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキレン基を意味する； V^2 は、単結合、酸素原子、硫黄原子、カルボニル基、スルフィニル基、スルホニル基、式 $-\text{CONR}^6-$ で表される基、式 $-\text{SO}_2\text{NR}^6-$ で表される基、式 $-\text{NR}^6\text{SO}_2-$ で表される基、式 $-\text{NR}^6\text{C}(\text{O})-$ で表される基または式 $-\text{NR}^6-$ で表される基を意味する (式中、 R^6 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する。))； V^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい 5～10 員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい 3～10 員非芳香族ヘテロ環式基を意味する。) で表される基を意味する；

R^2 は、シアノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、カルボキシ基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-\text{C}$

- ONV^{a11}V^{a12} (式中、V^{a11}は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルケニル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルキニル基、置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基、置換基を有していてもよいC₆₋₁₀アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する；V^{a12}は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルケニル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルキニル基、置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基、置換基を有していてもよいC₆₋₁₀アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルコキシ基または置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルコキシ基を意味する。)で表される基を意味する；

A¹は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する；

- 15 R¹¹は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルケニル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルキニル基、置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基、置換基を有していてもよいC₆₋₁₀アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基または置換基を有していてもよいモノ-C₁₋₆アルキルアミノ基を意味する；

R¹²は、水素原子または置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基を意味する；

V^{a13}は、酸素原子または硫黄原子を意味する；

A¹¹は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する；

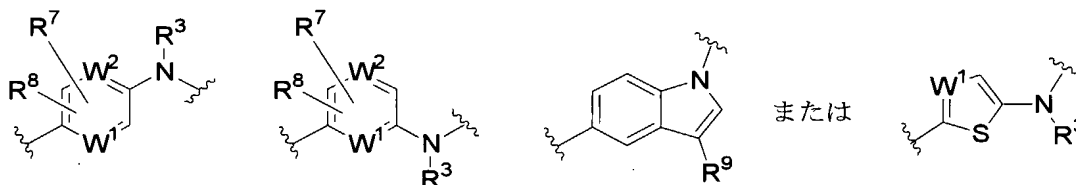
- 25 R¹³は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基または置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基を意味する；

R¹⁴は、式-V^{a14}-V^{a15} (式中、V^{a14}は、単結合またはカルボニル基を意味する；V^{a15}は、水素原子、水酸基、置換基を有していてもよいC₁₋₆ア

ルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、アミノ基、置換基を有していてもよいモノー C_{1-6} アルキルアミノ基、置換基を有していてもよいジー C_{1-6} アルキルアミノ基、ホルミル基、カルボキシ基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する。) で表される基を意味する。) で表される基を意味する；

Xは、酸素原子または硫黄原子を意味する；

10 Yは、式



(式中、 R^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する；

R^7 および R^8 は、それぞれ独立して水素原子、ハロゲン原子、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキルチオ基、ホルミル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-CONV^{d1}V^{d2}$ (式中、 V^{d1} および V^{d2} は、それぞれ独立して水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する。) で表される基を意味する；

25 R^9 は、水素原子、ハロゲン原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する；

W¹およびW²は、それぞれ独立して置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する。) で表される基を意味する;

5 R⁴は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルケニル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルキニル基、置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₇アシル基または置換基を有していてもよいC₂₋₇アルコキシカルボニル基を意味する;

10 R⁵は、水素原子、置換基を有していてもよいC₁₋₆アルキル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルケニル基、置換基を有していてもよいC₂₋₆アルキニル基、置換基を有していてもよいC₃₋₈シクロアルキル基、置換基を有していてもよいC₆₋₁₀アリール基、置換基を有していてもよい5~10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3~10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する] で表される化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物。

15 (1) または (2) に記載の方法において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物であることが好ましい。

20 また、(1) または (2) に記載の方法において、血管新生阻害物質は、例えば、抗 VEGF レセプター抗体、抗 VEGF 抗体、FGF レセプターキナーゼ阻害物質、PDGF レセプターキナーゼ阻害物質、EGF レセプターキナーゼ阻害物質、抗 FGF レセプター抗体、抗 PDGF レセプター抗体、抗 EGF レセプター抗体、抗 FGF 抗体、抗 PDGF 抗体および抗 EGF 抗体からなる群から選択される少なくとも一つであってもよい。

25 (3) (1) または (2) に記載の方法において使用するためのキットであって、抗 α -SMA 抗体、抗デスミン抗体、抗コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4抗体、抗カルポニン抗体、抗カルデスモン抗体および抗 PDGF レセプター抗体からなる群から選択される少なくとも一つを含む、前記キット。

(4) (1) または (2) に記載の方法において使用するためのキットであって、

α -SMA 遺伝子、デスミン遺伝子、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 遺伝子、カルポニン遺伝子、カルデスモン遺伝子および PDGF レセプター遺伝子からなる群から選択される少なくとも一つの遺伝子の転写産物である RNA の少なくとも一部に相補的な配列を含むポリヌクレオチドを含む、前記キット。

本発明により、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法が提供される。

より詳細には、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより予測することが可能となった。

本発明に係る方法は、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、抗腫瘍効果を予測することが可能となるため、より抗腫瘍効果を期待できる患者を選択して治療することができ、患者の QOL に貢献することが可能となった。

15 図面の簡単な説明

図 1 は、ヒト癌細胞株移植マウスモデルにおける 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの抗腫瘍効果と腫瘍組織中における周皮細胞で覆われた血管数との相関を示したものである。

20 図 2 は、ヒト癌細胞株移植マウスモデルにおける血管新生阻害物質の抗腫瘍効果と周皮細胞で覆われた血管数との関連を示したものである。図 2 において、化合物 1 は、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドを、化合物 2 は、5-(5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イリデンメチル)-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック アシッド
25 (2-ジエチルアミノエチル) アミドを示す。

図 3 は、ヒト癌細胞株皮下移植モデルにおける 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノ

リンカルボキサミドの抗腫瘍効果と腫瘍組織中の周皮細胞のマーカーであるデスミンとの相関を示したものである。

発明を実施するための最良の形態

- 5 以下に本発明の実施の形態について説明する。以下の実施の形態は、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施の形態にのみ限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、さまざまな形態で実施をすることができる。

10 なお、本明細書において引用した文献、および公開公報、特許公報その他の特許文献は、参照として本明細書に組み込むものとする。また、2005年8月1日に出願し、本願優先権主張の基礎となる特願 JP2005-223440 号の特許請求の範囲、明細書、図面および要約書の開示内容は、その全体が参照として本明細書に組み入れられる。

- 15 本発明は、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法であって、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程と、周皮細胞で覆われた血管数を指標として、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程とを含む、前記方法を提供する。

- 20 1. 腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程

本工程において、腫瘍は、癌患者より取り出された腫瘍が好ましい。そして、癌患者より取り出された腫瘍は、例えば、癌患者より外科的処置（例えば、バイオプシーなど）にて摘出することにより得ることができる。

- 25 なお、癌患者から採取される腫瘍の大きさは、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定できる大きさであればよい。例えば、固形癌の場合は、バイオプシーにより採取したときの大きさ（例えば、2 ～3 mm）でよく、メスにより組織片を切除したときの大きさ（例えば、米粒大）でもよく、限定されるものではない。

腫瘍の種類は、特に限定されず、例えば、脳腫瘍、頸癌、食道癌、舌癌、肺癌、

乳癌、膵癌、胃癌、小腸または十二指腸の癌、大腸癌（結腸癌、直腸癌）、膀胱癌、腎癌、肝癌、前立腺癌、子宮癌、卵巣癌、甲状腺癌、胆嚢癌、咽頭癌、肉腫（例えば、骨肉腫、軟骨肉腫、カポジ肉腫、筋肉腫、血管肉腫、線維肉腫など）、白血病（例えば、慢性骨髄性白血病（CML）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ球性白血病（CLL）および急性リンパ性白血病（ALL）、リンパ腫、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫（MM）など）およびメラノーマなどを挙げることができる。

周皮細胞は、ペリサイト（pericyte）ともよばれ、毛細血管や静脈を取り囲むように存在している細胞である。

周皮細胞は、 α 平滑筋細胞型アクチン（ α -smooth muscle actin、以下「 α -SMA」と称する場合がある）、デスミン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4（以下、「NG-2」と称する場合がある）、カルポニン、カルデスモン（Characterization of smooth muscle cell and pericyte differentiation in the rat retina in vivo. Investigative. Ophthalmology. Visual Science. 45, 2795-2806, 2004.）、Platelet-derived growth factor Receptor（以下、「PDGF レセプター」と称する場合がある）（Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. Current Opinion in Genetics and Development. 15, 102-111. 2005.）などを発現しており、また、第 VIII 因子（A new method for isolation of smooth muscle cells from human umbilical cord arteries. Scand J. Clin. Lab. Invest. 57, 21-29, 1997.）および GFAP（Localization of Brain Endothelial Luminal and Abluminal Transporters with Immunogold Electron Microscopy. NeuroRx., 2, 27-43, 2005.）を発現していないため、これらの発現の有無を調べることにより、他の細胞と区別することができる。

「周皮細胞で覆われた血管」とは、周皮細胞によって血管の全部または一部が取り囲まれた血管を意味する。

「周皮細胞で覆われた血管数」は、例えば、腫瘍中の単位面積あたりの周皮細胞で覆われた血管数、腫瘍中の単位体積あたりの周皮細胞で覆われた血管数または単位重量あたりの周皮細胞で覆われた血管数として算出することができる。

本工程では、周皮細胞で覆われた血管数は、例えば、周皮細胞に発現するタン

パク質および／または mRNA の発現を指標として測定することができる。

周皮細胞に発現するタンパク質および／または遺伝子は、例えば、 α -SMA、デスミン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4、カルポニン、カルデスモンおよび PDGF レセプターなどがあげられ、好ましくは α -SMA およびデスミンがあげ

- 5 られる。例えば、患者から採取した腫瘍中のこれらのタンパク質および／または mRNA の発現を測定すると、腫瘍中に発現するタンパク質および／または遺伝子の種類、発現の有無、発現量などの情報を得ることができ、この情報を指標に用いて周皮細胞で覆われた血管数を算出することができる。

- 10 タンパク質の測定は、例えば、免疫化学的方法（例えば、免疫組織化学的方法、ウエスタンブロットなど）、質量分析による方法などがあげられ、好ましくは免疫化学的方法があげられ、特に好ましくは免疫組織化学的方法があげられる。これらの方法は、常法に従い行うことができる。

- 15 一方、mRNA の測定は、例えば、in situ ハイブリダイゼーション、ノーザンブロット解析、DNA マイクロアレイ、RT-PCR、定量的 RT-PCR などの方法があげられ、好ましくは in situ ハイブリダイゼーションおよび定量的 RT-PCR があげられる。これらの方法は、常法に従い行うことができる。

In situ ハイブリダイゼーションは、例えば、実験医学別冊 新遺伝子工学ハンドブック 第 4 章、羊土社、2003 に記載の方法により行うことができる。

以下、周皮細胞で覆われた血管数の測定方法の一例について記載する。

- 20 周皮細胞で覆われた血管数は、周皮細胞に特異的に発現するタンパク質の発現を指標として免疫組織化学的方法により測定することができる。

免疫組織化学的方法は、常法に従い行うことができる（細胞工学別冊 目で見える実験ノートシリーズ バイオ実験イラストレイテッド 5 巻 タンパクなんてこわくない 第 5 章 免疫染色 p127-p163、秀潤社、1997）。

- 25 初めに、癌患者より取り出された腫瘍の組織切片を作製する。組織切片は、例えば、凍結切片、パラフィン切片などがあげられる。

癌患者より取り出された腫瘍は、例えば、未処理でもよく、固定化処理を行ってもよい。また、当該腫瘍は、例えば、OCT コンパウンドなどにより包埋するこ

とができる。

固定化処理には、ホルムアルデヒド、好ましくは 4% PFA/PBS(-)を用いることができる。その後、20%ショ糖/リン酸緩衝液等で置換することができる。

これらの諸条件は、測定するタンパク質および使用する抗体等に応じて適宜選

5 択することができる。

組織切片は、スライドガラスに保持し、染色が可能な状態に前処理することができる。前処理の方法は、特に限定されず、測定するタンパク質および使用する抗体に応じて適宜選択すればよい。例えば、キシレン、ホルムアルデヒド、アセトン、メタノールなどを含む溶液により組織切片を前処理することができる。また、組織切片は、例えば、BSA、Triton-X100、tween20、スキムミルク (skimmilk)、カゼインなどを含む溶液により前処理することも可能である。

次に、前処理した組織切片に測定するタンパク質を認識する抗体（以下、「一次抗体」と称する場合がある）を接触させる。一次抗体は、市販のものを使用してもよく、作製してもよい。また、一次抗体は、標識物質により標識されていてもよく、標識されていなくてもよい。一次抗体が標識されていない場合には、当該一次抗体を認識する抗体（以下、「二次抗体」と称する場合がある）を接触させることができる。二次抗体は、標識物質により標識されていることが好ましい。標識物質は、例えば、アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼなどの酵素、FITC (Fluorescein isothiocyanate)、Alexa488、PE、Rhodamin、Texas Red、Cy3、Cy5、Allophycocyanin、PharRed、DsRed、AmCyan、ZsGreen、ZsYellow、AsRed、HcRed などの蛍光物質およびビオチンなどがあげられる。標識物質がビオチンである場合には、さらに、アビジン、ストレプトアビジンなどを接触させることができる。当該アビジン、ストレプトアビジンなどは、標識物質により標識されていることが好ましい。標識物質は、例えば、アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼなどの酵素、FITC、Alexa488、PE、Rhodamin、Texas Red、Cy3、Cy5、Allophycocyanin、PharRed、DsRed、AmCyan、ZsGreen、ZsYellow、AsRed、HcRed などの蛍光物質があげられる。反応の諸条件（例えば、反応溶液、

抗体濃度、反応時間、反応温度、洗浄操作など) は、測定するタンパク質および使用する抗体等に応じて適宜選択することができる。

標識物質が酵素である場合には、基質および／または発色試薬を組織切片に接触させて発色させ、当該発色を観察することにより、周皮細胞で覆われた血管数

5 を測定することができる。

酵素がペルオキシダーゼの場合は、例えば、基質として H_2O_2 などを、発色試薬としてジアミノベンジジン (diaminobenzidine; DAB) などを組織切片に接触させることができる。

酵素がアルカリフォスファターゼの場合には、例えば、基質として
10 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate などを、発色試薬としてニトロブルーテトラゾリウム (nitrobluetetrazolium) などを組織切片に接触させることができる。また、酵素がアルカリフォスファターゼの場合には、例えば、発色基質として CSPD (disodium 3-(4-methoxyspiro {1,2-dioxetane-3,2' -(5' -chloro) tricyclo [3.3.1.1^{3,7}] decan} -4-yl) phenyl phosphate) などを組織切片に接触
15 させることにより化学発光反応を行うこともできる。

また、標識物質が蛍光物質の場合には、励起光を組織切片に照射して発光させ、当該蛍光を観察することにより、周皮細胞で覆われた血管数を測定することができる。

また、前記処理をした組織切片は、ヘマトキシリンまたはメチルグリーンにて
20 核染色を行うことができる。

さらに、前記処理をした組織切片は、水溶性封入剤で封入することができる。

このようにして、腫瘍中の単位面積あたりの周皮細胞で覆われた血管数を算出することができる。また、周皮細胞で覆われた血管数は、腫瘍中の単位体積あたりの値または単位重量あたりの値として算出することもできる。

25 以下、周皮細胞で覆われた血管数の測定方法の別の一例について記載する。

周皮細胞で覆われた血管数は、周皮細胞に特異的に発現する mRNA の発現を指標として定量的 RT-PCR により測定することができる。

初めに、癌患者より取り出された腫瘍から RNA を精製する。

腫瘍に対して TRIZOL 試薬 (インビトロジェン社) を添加し、腫瘍組織をホモジナイズする。次に、ホモジナイズした腫瘍にクロロホルムを添加する。この溶液を 15 秒間激しく振盪、攪拌し、室温で 2 ～ 3 分間放置後遠心を行う ($12,000 \times g$ 、10 分間、 4°C)。遠心後、水層を新しいチューブに移し、これにイソプロピルアルコールを加え、室温で 10 分間放置後遠心を行う ($12,000 \times g$ 、10 分間、 4°C)。得られた沈殿を 75% エタノールにて洗浄することにより、RNA を精製することができる。

定量的 RT-PCR の方法は、例えば、遺伝子特異的プローブ (TaqMan Gene Expression Assays mixture (ASSAYS-ON-DEMAND)、アプライドバイオシステムズ社) および ABI Prism 7900 Sequence Detection System (Perkin-Elmer Applied Biosystems 社) を用いて、次のように行うことができる。

操作は、逆転写反応および PCR 反応の 2 段階で行うことができる。最初の段階である逆転写反応は、得られた RNA に dNTP、oligo d(T)₁₆ プライマー、RNase Inhibitor、Multiscribe Reverse Transcriptase (Perkin-Elmer Applied Biosystems) を加え、 25°C にて 10 分間保温後、 48°C にて 30 分間加熱することにより行う。反応を 95°C 5 分間加熱することにより停止させる。

得られた cDNA を第 2 段階の PCR 反応に供する。PCR 反応は、例えば、4 ng cDNA、1xSYBR PCR buffer、3 mM MgCl_2 、各 $200 \mu\text{M}$ dATP, dCTP, dGTP、 $400 \mu\text{M}$ dUTP、200 nM primer pair、0.01 U/ μl AmpErase UNG、0.025 U/ μl AmpliTaq Gold DNA Polymerase (Perkin-Elmer Applied Biosystems) の反応系で行う。反応条件は、 50°C 2 分間、 95°C 10 分間の反応後、 95°C 20 秒間・ 55°C 20 秒間・ 72°C 30 秒間のサイクルを 40 サイクルで行う。プライマーおよびプローブは、例えば、Primer Expression (Perkin-Elmer Applied Biosystems) を用いて設計することができる。

また、プライマーおよびプローブは、TaqMan Gene Expression Assays mixture (ASSAYS-ON-DEMAND、アプライドバイオシステムズ社) を用いることもできる。複数検体の比較は、定量値を各検体の転写量に変動の少ないハウスキーピング遺伝子、好ましくは GAPDH、 β -actin、18S ribosomal RNA などの mRNA レベルにより補正して行うことができる。

また、血管内皮細胞に特異的に発現するタンパク質および／または mRNA の発現を指標として腫瘍中の血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）を測定しておくことが好ましい。血管内皮細胞に特異的に発現するタンパク質および／または遺伝子（mRNA）は、例えば、CD31、wVF

5 (von Willebrand Factor)、CD34、CD105、CXCR4、CD146、CD133、KDR (VEGF2 型受容体) および KIT (Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? Nature Reviews Cancer, 2, 826-35, 2002.) などがあげられ、好ましくは CD31 があげられる。血管数は、周皮細胞で覆われた血管数の測定方法と同様に、例えば、免疫化学的方法、in situ ハイブリダイゼーション、定量的 RT-PCR などの方法により算出することができる。

このとき、周皮細胞で覆われた血管数を全体の血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）で補正することにより、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かの判断の精度をより向上することが可能となる。例えば、周皮細胞で覆われた血管数を、全体の血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）で除した値を、当該判断の指標とすることができる。

2. 癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程
本工程では、前工程で測定された周皮細胞で覆われた血管数を指標として、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断することができる。そして、当該感受性の判断結果から、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測することができる。

本工程において、周皮細胞で覆われた血管数としては、例えば、腫瘍中の単位面積あたりの周皮細胞で覆われた血管数、腫瘍中の単位体積あたりの周皮細胞で覆われた血管数、腫瘍中の単位重量あたりの周皮細胞で覆われた血管数、腫瘍中の全体の血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）に対する周皮細胞で覆われた血管数の比率などを指標とすることができる。

腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数が少ない場合は、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であると判断することができる。一方、癌患者から採取された腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数が多い場合は、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性でないと判断することができる。

- 5 周皮細胞で覆われた血管数が少ない場合とは、例えば、血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）に対する周皮細胞で覆われた血管数の比率が、25%以下、好ましくは20%以下、より好ましくは15%以下、特に好ましくは10%以下の場合をいうことができる。周皮細胞で覆われた血管数が多い場合は、例えば、上記の「周皮細胞で覆われた血管数が少ない場合」
- 10 に該当しない場合をいうことができる。

本発明において、抗腫瘍効果の予測は、癌患者において血管新生阻害物質がどの程度抗腫瘍効果を奏するかを投与前に予測することを主目的とするものである。

- 癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であると判断されたときは、当該血管新生阻害物質は、より抗腫瘍効果を奏すると予測することができる。より抗
- 15 腫瘍効果を奏する場合として、例えば、同様の症状の患者における平均的な抗腫瘍効果よりも高い抗腫瘍効果を期待できる場合、同一の癌種に罹患した他の患者よりも高い抗腫瘍効果を期待できる場合、または他の癌種に罹患した患者よりも高い抗腫瘍効果を期待できる場合などをあげることができる。

- ただし、後述のように、本発明において血管新生阻害物質は、本来血管新生を
- 20 阻害する作用を有するために、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性でないと判断されたときであっても、当該血管新生阻害物質が抗腫瘍効果を奏しないと予測されるものではない。

- 本発明の別の態様として、周皮細胞で覆われた血管数を指標として、血管新生阻害物質に対して高感受性を示す患者を選択する方法をあげることができる。周
- 25 皮細胞で覆われた血管数が少ない場合は、上記の通り、当該患者は、血管新生阻害物質に対して高感受性を示すと判断できる。したがって、このような患者を、血管新生阻害物質に対する高感受性を示す患者として選択することができる。

また、本発明の別の態様として、周皮細胞で覆われた血管数を指標として、血

管新生阻害物質に対する感受性を分析し、分析結果によって患者を分類する方法をあげることができる。すなわち、本発明の方法において、上記のように血管新生阻害物質に対する感受性を分析し、この分析結果に基づいて、患者を分類することができる。例えば、周皮細胞で覆われた血管数の多いグループと、周皮細胞

5 で覆われた血管数の少ないグループとに分類することができる。

また、本発明の別の態様として、周皮細胞で覆われた血管数を指標として、血管新生阻害物質の投与対象となる患者を選択する方法をあげることができる。周皮細胞で覆われた血管数の少ない患者は、血管新生阻害物質に対して高感受性を示すと予測されるため、血管新生阻害物質の投与対象となる。

10 また、本発明の別の態様として、周皮細胞で覆われた血管数を指標として、患者に対する血管新生阻害物質の治療効果を予測する方法をあげることができる。本発明の方法において、周皮細胞で覆われた血管数が少ない場合は、血管新生阻害物質に対して高い感受性を示すと判断できるため、当該患者における血管新生阻害物質の治療効果は高いと予測することができる。

15 また、本発明には、患者の血管新生阻害物質に対する感受性の程度を予測するために、当該患者由来の周皮細胞で覆われた血管数を評価する方法が含まれる。当該評価方法は、上記 1. に示すとおりである。

本工程において、血管新生阻害物質は、後述のとおりであるが、好ましくは 4
ー（3-クロロ-4-（シクロプロピルアミノカルボニル）アミノフェノキシ）
20 ー7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である。

本発明に係る方法は、血管新生阻害物質を患者に投与する前に、当該患者における血管新生阻害物質の有効性の程度を予測するのに用いることができる。そして、血管新生阻害物質の有する効果をより期待できる患者を選択して、疾患の治

25 療を行うことができる。したがって、本発明は、臨床上非常に有用である。

3. 血管新生阻害物質

本発明において、血管新生阻害物質は、血管新生を阻害する活性を有するもの

であれば、特には限定されない。

血管新生阻害物質は、例えば、

VEGF 阻害物質（例えば、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質、抗 VEGF レセプター抗体、抗 VEGF 抗体（Cancer Research., 55, 5296-5301, 1995））、

- 5 FGF（繊維芽細胞増殖因子：fibroblast growth factor）阻害物質（例えば、FGF レセプターキナーゼ阻害物質、抗 FGF レセプター抗体、抗 FGF 抗体（Cancer Research., 51, 6180-4, 1991））、

PDGF（血小板由来増殖因子：platelet-derived growth factor）阻害物質（例えば、PDGF レセプターキナーゼ阻害物質（J. Clinical Investigation.,

- 10 111, 1287-95）、抗 PDGF レセプター抗体、抗 PDGF 抗体）、

EGF（上皮成長因子：epidermal growth factor）阻害物質（例えば、EGF レセプターキナーゼ阻害物質（Cancer Research., 51, 6180-4, 1991）、抗 EGF レセプター抗体、抗 EGF 抗体）、

- 15 インテグリン阻害物質（例えば、 $\alpha v \beta 3$ インテグリン阻害物質、 $\alpha v \beta 5$ インテグリン阻害物質（Clinical Cancer Research., 6, 3056-61, 2000））、

内因性阻害物質（例えば、IL-12、Trombospondin-1, Endostatin, Angiostatin（International J. Cancer., 78, 361-5, 1998）、COX-2 阻害物質（Annals of N. Y. Acad. Science., 84-6, 1999））、

- 20 マトリックスメタロプロテイン阻害物質（International J. Pancreatol., 21, 1-12, 1997））、

その他阻害物質（例えば、farnesyltransferase 阻害物質、一酸化窒素阻害物質、アンジオテンシン変換酵素阻害物質、HMG-CoA reductase 阻害物質、Vascular Target 阻害物質、メチオニンアミノペプチダーゼ阻害剤（Science., 282, 1324-1327, 1998））、

- 25 などがあげられ、好ましくは VEGF 阻害物質であり、より好ましくは VEGF レセプターキナーゼ阻害物質、抗 VEGF レセプター抗体または抗 VEGF 抗体であり、特に好ましくは VEGF レセプターキナーゼ阻害物質である。

(A) 化合物の基の定義

本明細書において、「ハロゲン原子」とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子またはヨウ素原子を意味する。

「ハロゲン原子」の好適な例としては、フッ素原子、塩素原子をあげることができ
5 ける。

本明細書において、「C₁₋₆アルキル基」とは、炭素数が1～6個の直鎖状または分枝鎖状のアルキル基を意味し、具体例としては、メチル基、エチル基、1-プロピル基（n-プロピル基）、2-プロピル基（i-プロピル基）、2-メチル-1-プロピル基（i-ブチル基）、2-メチル-2-プロピル基（t-ブチル基）、1-ブチル基（n-ブチル基）、2-ブチル基（s（sec）-ブチル基）、1-ペンチル基、2-ペンチル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-ブチル基、3-メチル-1-ブチル基、2-メチル-2-ブチル基、3-メチル-2-ブチル基、2, 2-ジメチル-1-プロピル基、1-ヘキシル基、2-ヘキシル基、3-ヘキシル基、2-メチル-1-ペンチル基、3-メチル-1-ペンチル基、4-メチル-1-ペンチル基、2-メチル-2-ペンチル基、3-メチル-2-ペンチル基、4-メチル-2-ペンチル基、2-メチル-3-ペンチル基、3-メチル-3-ペンチル基、2, 3-ジメチル-1-ブチル基、3, 3-ジメチル-1-ブチル基、2, 2-ジメチル-1-ブチル基、2-エチル-1-ブチル基、3, 3-ジメチル-2-ブチル基、2, 3-ジメチル-2-ブチル基などがあげられる。

「C₁₋₆アルキル基」の好適な例としては、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、2-メチル-1-プロピル基、2-メチル-2-プロピル基、1-ブチル基、2-ブチル基、1-ペンチル基、2-ペンチル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-ブチル基、3-メチル-1-ブチル基、2-メチル-2-ブチル基、3-メチル-2-ブチル基、2, 2-ジメチル-1-プロピル基をあげることができ、より好適な例としては、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、2-メチル-1-プロピル基、2-メチル-2-プロピル基、1-ブチル基、2-ブチル基をあげることができ、さらに好適な例としては、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基をあげることができ、最も好適な例として

は、メチル基、エチル基をあげることができる。

本明細書において、「 C_{1-6} アルキレン基」とは、上記定義「 C_{1-6} アルキル基」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味し、具体例としては、メチレン基、1, 2-エチレン基、1, 1-エチレン基、1, 3-プロピレン基、5 テトラメチレン基、ペンタメチレン基、ヘキサメチレン基などがあげられる。

本明細書において、「 C_{2-6} アルケニル基」とは、二重結合を1個有する、炭素数が2～6個の直鎖状または分枝鎖状のアルケニル基を意味し、具体例としては、エテニル基（ビニル基）、1-プロペニル基、2-プロペニル基（アリル基）、1-ブテニル基、2-ブテニル基、3-ブテニル基、ペンテニル基、ヘキセニル基などが10 あげられる。

本明細書において、「 C_{2-6} アルキニル基」とは、三重結合を1個有する、炭素数が2～6個の直鎖状または分枝鎖状のアルキニル基を意味し、具体例としては、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、1-ブチニル基、2-ブチニル基、3-ブチニル基、ペンチニル基、ヘキシニル基などがあげられる。

本明細書において、「 C_{3-8} シクロアルキル基」とは、炭素数が3～8個の単環または二環の飽和脂肪族炭化水素基を意味し、具体例としては、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基、ビスクロ[2. 1. 0]ペンチル基、ビスクロ[3. 1. 0]ヘキシル基、ビスクロ[2. 1. 1]ヘキシル基、ビスクロ[4. 1. 0]ヘプチル基、ビスクロ[2. 2. 1]ヘプチル基（ノルボルニル基）、ビスクロ[3. 3. 0]オクチル基、15 ビスクロ[3. 2. 1]オクチル基、ビスクロ[2. 2. 2]オクチル基などがあげられる。

「 C_{3-8} シクロアルキル基」の好適な例としては、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基をあげることができ、より好適な例としては、シクロプロピル基が25 あげられる。

本明細書において、「 C_{6-10} アリール基」とは、炭素数が6～10個の芳香族性の炭化水素環式基を意味し、具体例としては、フェニル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、インデニル基、アズレニル基などがあげられる。

「C₆₋₁₀アリール基」の好適な例としては、フェニル基をあげることができる。

本明細書において、「ヘテロ原子」とは、窒素原子、酸素原子または硫黄原子を意味する。

本明細書において、「5～10員ヘテロアリール基」とは、環を構成する原子の数が5～10個であり、環を構成する原子中に1～5個のヘテロ原子を含有する芳香族性の環式基を意味し、具体例としては、フリル基、チエニル基、ピロリル基、イミダゾリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、イソチアゾリル基、フラザニル基、チアジアゾリル基、オキサジアゾリル基、ピリジル基、ピラジニル基、ピリダジニル基、ピリミジニル基、トリアジニル基、プリニル基、プテリジニル基、キノリル基、イソキノリル基、ナフチリジニル基、キノキサリニル基、シンノリニル基、キナゾリニル基、フタラジニル基、イミダゾピリジル基、イミダゾチアゾリル基、イミダゾオキサゾリル基、ベンゾチアゾリル基、ベンゾオキサゾリル基、ベンズイミダゾリル基、インドリル基、イソインドリル基、インダゾリル基、ピロロピリジル基、チエノピリジル基、フロピリジル基、ベンゾチアジアゾリル基、ベンゾオキサジアゾリル基、ピリドピリミジニル基、ベンゾフリル基、ベンゾチエニル基、チエノフリル基などがあげられる。

「5～10員ヘテロアリール基」の好適な例としては、フリル基、チエニル基、ピロリル基、イミダゾリル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、イソチアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基をあげることができる。

本明細書において、「3～10員非芳香族ヘテロ環式基」とは、

- (1) 環を構成する原子の数が3～10個であり、
- (2) 環を構成する原子中に1～2個のヘテロ原子を含有し、
- (3) 環中に二重結合を1～2個含んでいてもよく、
- (4) 環中にカルボニル基、スルフィニル基またはスルホニル基を1～3個含んでいてもよい、
- (5) 単環式または二環式である非芳香族性の環式基を意味し、環を構成する原子

中に窒素原子を含有する場合、窒素原子から結合手が出ていてもよい。

具体例としては、アジリジニル基、アゼチジニル基、ピロリジニル基、ピペリジニル基、アゼパニル基、アゾカニル基、ピペラジニル基、ジアゼパニル基、ジアゾカニル基、ジアザビシクロ[2. 2. 1]ヘプチル基、モルホリニル基、チオモルホリニル基、1, 1-ジオキソチオモルホリニル基、オキシラニル基、オキセタニル基、テトラヒドロフリル基、ジオキサラニル基、テトラヒドロピラニル基、ジオキサニル基、テトラヒドロチエニル基、テトラヒドロチオピラニル基、オキサゾリジニル基、チアゾリジニル基などがあげられる。

「3～10員非芳香族ヘテロ環式基」の好適な例としては、アジリジニル基、アゼチジニル基、ピロリジニル基、ピペリジニル基、アゼパニル基、ピペラジニル基、ジアゼパニル基、モルホリニル基、チオモルホリニル基、1, 1-ジオキソチオモルホリニル基、テトラヒドロフリル基、テトラヒドロピラニル基をあげることができる。

本明細書において、「C₁₋₆アルコキシ基」とは、上記定義「C₁₋₆アルキル基」の末端に酸素原子が結合した基であることを意味し、具体的としては、メトキシ基、エトキシ基、1-プロポキシ基 (n-プロポキシ基)、2-プロポキシ基 (i-プロポキシ基)、2-メチルー1-プロポキシ基 (i-ブトキシ基)、2-メチルー2-プロポキシ基 (t-ブトキシ基)、1-ブトキシ基 (n-ブトキシ基)、2-ブトキシ基 (s-ブトキシ基)、1-ペンチルオキシ基、2-ペンチルオキシ基、3-ペンチルオキシ基、2-メチルー1-ブトキシ基、3-メチルー1-ブトキシ基、2-メチルー2-ブトキシ基、3-メチルー2-ブトキシ基、2, 2-ジメチルー1-プロポキシ基、1-ヘキシルオキシ基、2-ヘキシルオキシ基、3-ヘキシルオキシ基、2-メチルー1-ペンチルオキシ基、3-メチルー1-ペンチルオキシ基、4-メチルー1-ペンチルオキシ基、2-メチルー2-ペンチルオキシ基、3-メチルー2-ペンチルオキシ基、4-メチルー2-ペンチルオキシ基、2-メチルー3-ペンチルオキシ基、3-メチルー3-ペンチルオキシ基、2, 3-ジメチルー1-ブトキシ基、3, 3-ジメチルー1-ブトキシ基、2, 2-ジメチルー1-ブトキシ基、2-エチルー1-ブトキシ基、3, 3-ジメチルー2-ブトキシ基、2,

3-ジメチルー2-ブトキシ基などがあげられる。

「C₁₋₆アルコキシ基」の好適な例としては、メトキシ基、エトキシ基、1-プロポキシ基、2-プロポキシ基、2-メチルー1-プロポキシ基、2-メチルー2-プロポキシ基、1-ブトキシ基、2-ブトキシ基、1-ペンチルオキシ基、2-ペンチルオキシ基、3-ペンチルオキシ基、2-メチルー1-ブトキシ基、3-メチルー1-ブトキシ基、2-メチルー2-ブトキシ基、3-メチルー2-ブトキシ基、2, 2-ジメチルー1-プロポキシ基をあげることができ、より好適な例としては、メトキシ基、エトキシ基、1-プロポキシ基、2-プロポキシ基、2-メチルー1-プロポキシ基、2-メチルー2-プロポキシ基、1-ブトキシ基、2-ブトキシ基をあげることができ、さらに好適な例としては、メトキシ基、エトキシ基、1-プロポキシ基、2-プロポキシ基をあげることができ、最も好適な例としては、メトキシ基、エトキシ基をあげることができる。

本明細書において、「C₁₋₆アルキルチオ基」とは、上記定義「C₁₋₆アルキル基」の末端に硫黄原子が結合した基であることを意味し、具体例としては、メチルチオ基、エチルチオ基、1-プロピルチオ基 (n-プロピルチオ基)、2-プロピルチオ基 (i-プロピルチオ基)、2-メチルー1-プロピルチオ基 (i-ブチルチオ基)、2-メチルー2-プロピルチオ基 (t-ブチルチオ基)、1-ブチルチオ基 (n-ブチルチオ基)、2-ブチルチオ基 (s-ブチルチオ基)、1-ペンチルチオ基、2-ペンチルチオ基、3-ペンチルチオ基、2-メチルー1-ブチルチオ基、3-メチルー1-ブチルチオ基、2-メチルー2-ブチルチオ基、3-メチルー2-ブチルチオ基、2, 2-ジメチルー1-プロピルチオ基、1-ヘキシルチオ基、2-ヘキシルチオ基、3-ヘキシルチオ基、2-メチルー1-ペンチルチオ基、3-メチルー1-ペンチルチオ基、4-メチルー1-ペンチルチオ基、2-メチルー2-ペンチルチオ基、3-メチルー2-ペンチルチオ基、4-メチルー2-ペンチルチオ基、2-メチルー3-ペンチルチオ基、3-メチルー3-ペンチルチオ基、2, 3-ジメチルー1-ブチルチオ基、3, 3-ジメチルー1-ブチルチオ基、2, 2-ジメチルー1-ブチルチオ基、2-エチルー1-ブチルチオ基、3, 3-ジメチルー2-ブチルチオ基、2, 3-ジメチルー2-ブチルチオ基などがあげられる。

「C₁₋₆アルキルチオ基」の好適な例としては、メチルチオ基、エチルチオ基、1-プロピルチオ基（n-プロピルチオ基）、2-プロピルチオ基（i-プロピルチオ基）、2-メチル-1-プロピルチオ基（i-ブチルチオ基）、2-メチル-2-プロピルチオ基（t-ブチルチオ基）、1-ブチルチオ基（n-ブチルチオ基）、2-ブチルチオ基（s-ブチルチオ基）をあげることができる。

本明細書において、「C₃₋₈シクロアルコキシ基」とは、上記定義「C₃₋₈シクロアルキル基」の末端に酸素原子が結合した基であることを意味し、具体的としては、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロヘプチルオキシ基、シクロオクチルオキシ基、ビスクロ[2.1.0]ペンチルオキシ基、ビスクロ[3.1.0]ヘキシルオキシ基、ビスクロ[2.1.1]ヘキシルオキシ基、ビスクロ[4.1.0]ヘプチルオキシ基、ビスクロ[2.2.1]ヘプチルオキシ基（ノルボルニルオキシ基）、ビスクロ[3.3.0]オクチルオキシ基、ビスクロ[3.2.1]オクチルオキシ基、ビスクロ[2.2.2]オクチルオキシ基などがあげられる。

「C₃₋₈シクロアルコキシ基」の好適な例としては、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロペンチルオキシ基をあげることができ、より好適な例としては、シクロプロポキシ基をあげることができる。

本明細書において、「モノ-C₁₋₆アルキルアミノ基」とは、アミノ基中の1個の水素原子を、上記定義「C₁₋₆アルキル基」で置換した基を意味し、具体例としては、メチルアミノ基、エチルアミノ基、1-プロピルアミノ基（n-プロピルアミノ基）、2-プロピルアミノ基（i-プロピルアミノ基）、2-メチル-1-プロピルアミノ基（i-ブチルアミノ基）、2-メチル-2-プロピルアミノ基（t-ブチルアミノ基）、1-ブチルアミノ基（n-ブチルアミノ基）、2-ブチルアミノ基（s-ブチルアミノ基）、1-ペンチルアミノ基、2-ペンチルアミノ基、3-ペンチルアミノ基、2-メチル-1-ブチルアミノ基、3-メチル-1-ブチルアミノ基、2-メチル-2-ブチルアミノ基、3-メチル-2-ブチルアミノ基、2,2-ジメチル-1-プロピルアミノ基、1-ヘキシルアミノ基、2-ヘキシルアミノ基、3-ヘキシルアミノ基、2-メチル-1-ペンチルアミノ基、3-メチル-1-ペンチル

アミノ基、4-メチル-1-ペンチルアミノ基、2-メチル-2-ペンチルアミノ基、3-メチル-2-ペンチルアミノ基、4-メチル-2-ペンチルアミノ基、2-メチル-3-ペンチルアミノ基、3-メチル-3-ペンチルアミノ基、2, 3-ジメチル-1-ブチルアミノ基、3, 3-ジメチル-1-ブチルアミノ基、2, 2-ジメチル-1-ブチルアミノ基、2-エチル-1-ブチルアミノ基、3, 3-ジメチル-2-ブチルアミノ基、2, 3-ジメチル-2-ブチルアミノ基などがあげられる。

本明細書において、「ジ- C_{1-6} アルキルアミノ基」とは、アミノ基中の2個の水素原子を、それぞれ同一のまたは異なる、上記定義「 C_{1-6} アルキル基」で置換した基を意味し、具体例としては、N, N-ジメチルアミノ基、N, N-ジエチルアミノ基、N, N-ジ-n-プロピルアミノ基、N, N-ジ-i-プロピルアミノ基、N, N-ジ-n-ブチルアミノ基、N, N-ジ-i-ブチルアミノ基、N, N-ジ-s-ブチルアミノ基、N, N-ジ-t-ブチルアミノ基、N-エチル-N-メチルアミノ基、N-n-プロピル-N-メチルアミノ基、N-i-プロピル-N-メチルアミノ基、N-n-ブチル-N-メチルアミノ基、N-i-ブチル-N-メチルアミノ基、N-s-ブチル-N-メチルアミノ基、N-t-ブチル-N-メチルアミノ基などがあげられる。

本明細書において、「 C_{2-7} アシル基」とは、上記定義の「 C_{1-6} アルキル基」が結合したカルボニル基であることを意味し、具体例としては、例えば、アセチル基、プロピオニル基、イソプロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基などがあげられる。

本明細書において、「 C_{2-7} アルコキシカルボニル基」とは、上記定義の「 C_{1-6} アルコキシ基」が結合したカルボニル基であることを意味し、具体例としては、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、1-プロピルオキシカルボニル基、2-プロピルオキシカルボニル基、2-メチル-2-プロポキシカルボニル基などがあげられる。

本明細書において、「置換基を有していてもよい」とは、「置換可能な部位に、任意に組み合わせて1または複数個の置換基を有していてもよい」ことを意味し、置

- 換基の具体例としては、例えば、ハロゲン原子、水酸基、チオール基、ニトロ基、シアノ基、ホルミル基、カルボキシ基、アミノ基、シリル基、メタンスルホニル基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルケニル基、 C_{2-6} アルキニル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、 C_{6-10} アリール基、5～10員ヘテロアリール基、3～10員非芳香族ヘテロ環式基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{1-6} アルキルチオ基、 C_{3-8} シクロアルコキシ基、モノ- C_{1-6} アルキルアミノ基、ジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、 C_{2-7} アシル基または C_{2-7} アルコキシカルボニル基などをあげることができる。ただし、 C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルケニル基、 C_{2-6} アルキニル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、 C_{6-10} アリール基、5～10員ヘテロアリール基、3～10員非芳香族ヘテロ環式基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{1-6} アルキルチオ基、 C_{3-8} シクロアルコキシ基、モノ- C_{1-6} アルキルアミノ基、ジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、 C_{2-7} アシル基および C_{2-7} アルコキシカルボニル基はそれぞれ独立して下記置換基群からなる群から選ばれる1～3個の基を有していてもよい。

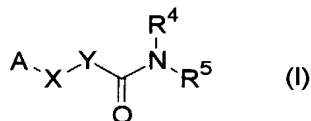
<置換基群>

- 15 ハロゲン原子、水酸基、チオール基、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、 C_{2-6} アルケニル基、 C_{2-6} アルキニル基、 C_{6-10} アリール基、5～10員ヘテロアリール基、3～10員非芳香族ヘテロ環式基、 C_{1-6} アルコキシ基および C_{1-6} アルキルチオ基。

20 (B) VEGF レセプターキナーゼ阻害物質

本発明において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、

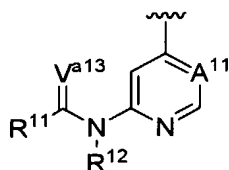
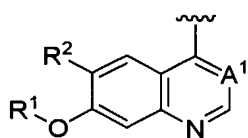
一般式 (I)



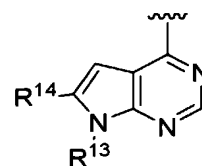
で表される化合物を挙げることができる。

25 (i) A

Aは、式



または



で表される基を意味する。

- 式中、 R^1 は、式 $-V^1-V^2-V^3$ （式中、 V^1 は、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキレン基を意味する； V^2 は、単結合、酸素原子、硫黄原子、カルボニル基、スルフィニル基、スルホニル基、式 $-CONR^6-$ で表される基、式 $-SO_2NR^6-$ で表される基、式 $-NR^6SO_2-$ で表される基、式 $-NR^6CO-$ で表される基または式 $-NR^6-$ で表される基を意味する（式中、 R^6 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する。）； V^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する。）で表される基を意味する。
- R^2 は、シアノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、カルボキシ基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-CONV^{a11}V^{a12}$ （式中、 V^{a11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する； V^{a12} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環

式基、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。)で表される基を意味する。

A^{11} は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する。

- 5 R^{11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基または置換基を有していてもよいモノー C_{1-6} アルキルアミノ基を意味する。

- 10 R^{12} は、水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する。

V^{a13} は、酸素原子または硫黄原子を意味する。

A^{11} は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する。

- 15 R^{13} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する。

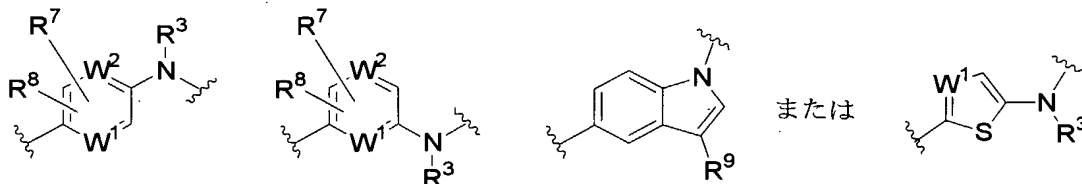
- R^{14} は、式 $-V^{a14}-V^{a15}$ (式中、 V^{a14} は、単結合またはカルボニル基を意味する； V^{a15} は、水素原子、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、アミノ基、置換基を有していてもよいモノー C_{1-6} アルキルアミノ基、置換基を有していてもよいジー C_{1-6} アルキルアミノ基、ホルミル基、カルボキシ基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する。)で表される基を意味する。
- 25

(ii) X

Xは、酸素原子または硫黄原子を意味する。

(iii) Y

Yは、式



で表される基を意味する。

式中、 R^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基
 5 を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アル
 キニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有して
 いてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカル
 ボニル基を意味する。

R^7 および R^8 は、それぞれ独立して水素原子、ハロゲン原子、シアノ基、ニト
 10 ロ基、アミノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有して
 いてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ
 シ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキルチオ基、ホルミル基、置換基を
 有していてもよい C_{2-7} アシル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシ
 カルボニル基または式 $-CONV^{d1}V^{d2}$ （式中、 V^{d1} および V^{d2} は、それぞれ
 15 独立して水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味す
 る。）で表される基を意味する。

R^9 は、水素原子、ハロゲン原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキ
 ル基を意味する。

W^1 および W^2 は、それぞれ独立して置換基を有していてもよい炭素原子または
 20 窒素原子を意味する。

(iv) R^4

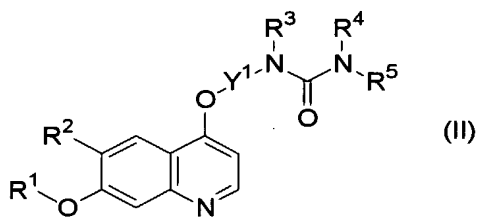
R^4 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有し
 ていてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル
 基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していても
 25 よい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニ
 ル基を意味する。

(v) R^5

R^5 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する。

一般式 (I) で表される化合物は、公知の方法で製造でき、例えば、国際公開第02/032872号パンフレット (W002/32872)、国際公開第2004/020434号パンフレット (W02004/020434)、および国際公開第2005/063713号パンフレット (W02005/063713) のいずれかに記載された方法によって製造することができる。

本発明において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、好ましくは、
一般式 (II)



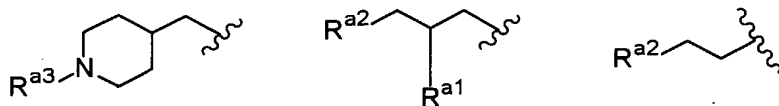
で表される化合物を挙げることができる。一般式 (II) は、一般式 (I) で表される化合物の好ましい例である。

(i) R^1

R^1 は、前記定義と同じ意味である。

R^1 の好適な例としては、 C_{1-6} アルキル基があげられる。例えば、 R^1 の定義において V^1 が C_{1-6} アルキレン基、 V^2 が単結合、 V^3 が水素原子のときは、 R^1 は C_{1-6} アルキル基となる。ただし、この場合、 R^1 は、 C_{1-6} アルキル基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、 C_{1-6} アルコキシ基、アミノ基、モノ- C_{1-6} アルキルアミノ基およびジ- C_{1-6} アルキルアミノ基から選ばれる置換基を有していてもよい。

R^1 のより好適な例としては、メチル基または式



(式中、 R^{a3} はメチル基を意味する； R^{a1} は水素原子または水酸基を意味する；
 R^{a2} は、メトキシ基、エトキシ基、1-ピロリジニル基、1-ピペリジニル基、
 5 4-モルホリニル基、ジメチルアミノ基またはジエチルアミノ基を意味する。) の
 いずれかで表される基があげられる。

R^1 のさらに好適な例としては、メチル基または2-メトキシエチル基があげられる。

(ii) R^2

10 R^2 は、前記定義と同じ意味である。

R^2 の好適な例としては、シアノ基または式 $-\text{CONV}^{a11}\text{V}^{a12}$ (式中、 V^{a11}
 11 および V^{a12} は、前記定義と同じ意味である。) で表される基があげられる。

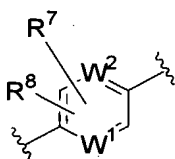
R^2 のより好適な例としては、シアノ基または式 $-\text{CONHV}^{a16}$ (式中、 V^{a16}
 16 は、水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基または
 15 C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。ただし、 V^{a16} は、ハロゲン原子、シアノ基、水酸基および
 C_{1-6} アルコキシ基から選ばれる置換基を有していてもよい。) で表される基があげられる。

R^2 のさらに好適な例としては、式 $-\text{CONHV}^{a17}$ (式中、 V^{a17} は、水素原子、
 20 C_{1-6} アルキル基または C_{1-6} アルコキシ基を意味する。) で表される基があげられる。

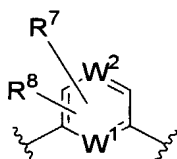
R^2 のもっとも好適な例としては、式 $-\text{CONHV}^{a18}$ (式中、 V^{a18} は、水素原子、
 メチル基またはメトキシ基を意味する。) で表される基があげられる。

(iii) Y^1

Y^1 は、式

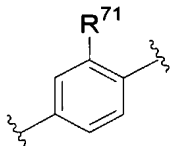


または



(式中、 R^7 、 R^8 、 W^1 および W^2 は、前記定義と同じ意味である。) で表される基を意味する。

Y^1 の好適な例としては、式



- 5 (式中、 R^{71} は、水素原子またはハロゲン原子を意味する。) で表される基があげられる。

(iv) R^3 および R^4

R^3 および R^4 は、前記定義と同じ意味である。

R^3 および R^4 の好適な例としては、水素原子があげられる。

- 10 (v) R^5

R^5 は、前記定義と同じ意味である。

R^5 の好適な例としては、水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基または C_{6-10} アリール基 (ただし、 R^5 は、ハロゲン原子およびメタンスルホニル基から選ばれる置換基を有していてもよい) があげられる。

- 15 R^5 のより好適な例としては、メチル基、エチル基またはシクロプロピル基があげられる。

また、一般式 (II) で表される化合物の好適な例としては、

$N-(4-(6-(シアノ-7-(2-メトキシエトキシ)-4-キノリル) オキシ-2-フルオロフェニル)-N'-(4-フルオロフェニル) ウレア、$

- 20 $N-(2-クロロ-4-((6-(シアノ-7-((1-メチル-4-ピペリジル) メトキシ)-4-キノリル) オキシ) フェニル)-N'-シクロプロピルウレア、$

$N-(4-((6-(シアノ-7-(((2R)-3-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシプロピル) オキシ)-4-キノリル) オキシ) フェニル)-N'-(4-フルオロフェニル) ウレア、$

- 25 $N-(4-((6-(シアノ-7-(((2R)-2-ヒドロキシ-3-(1-ピロリジノ) プロピル) オキシ)-4-キノリル) オキシ) フェニル)-N'-(4-$

ーフルオロフェニル) ウレア、

4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

5 4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7- (2-メトキシエトキシ) -6-キノリンカルボキサミド、

N6-シクロプロピル-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

10 N6- (2-メトキシエチル) -4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N6- (2-フルオロエチル) -4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

15 N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N6-メチル-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

20 N6-エチル-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-フルオロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7- (2-メトキシエトキシ) -6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7- (2-ヒドロキシエトキシ) -6-キノリンカルボキサミド、

25 4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7- ((2S)-2, 3-ジヒドロキシプロピル) オキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ-4- (メチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-

ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

4ー(3ークロロー4ー(エチルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)ー7
ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

5 N6ーメトキシー4ー(3ークロロー4ー(((エチルアミノ)カルボニル)ア
ミノ)フェノキシ)ー7ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

4ー(3ークロロー4ー(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキ
シ)ー7ー(2ーエトキシエトキシ)ー6ーキノリンカルボキサミド、

4ー(4ー((シクロプロピルアミノ)カルボニル)アミノフェノキシ)ー7ー
(2ーメトキシエトキシ)ー6ーキノリンカルボキサミド、

10 Nー(2ーフルオロー4ー((6ーカルバモイルー7ーメトキシー4ーキノリル)
オキシ)フェニル)ーN'ーシクロプロピルウレア、

N6ー(2ーヒドロキシエチル)ー4ー(3ークロロー4ー(((シクロプロピ
ルアミノ)カルボニル)アミノ)フェノキシ)ー7ーメトキシー6ーキノリンカ
ルボキサミド、

15 4ー(3ークロロー4ー(1ープロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)
ー7ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

4ー(3ークロロー4ー(c i sー2ーフルオローシクロプロピルアミノカル
ボニル)アミノフェノキシ)ー7ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

20 N6ーメチルー4ー(3ークロロー4ー(((シクロプロピルアミノ)カルボニ
ル)アミノ)フェノキシ)ー7ー(2ーメトキシエトキシ)ー6ーキノリンカル
ボキサミド、

N6ーメチルー4ー(3ークロロー4ー(((エチルアミノ)カルボニル)アミ
ノ)フェノキシ)ー7ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

25 4ー(3ークロロー4ー(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキ
シ)ー7ー(2ー(4ーモルホリノ)エトキシ)ー6ーキノリンカルボキサミド、

4ー(3ークロロー4ー(2ーフルオロエチルアミノカルボニル)アミノフェ
ノキシ)ー7ーメトキシー6ーキノリンカルボキサミド、

N6ー((2R)テトラヒドロー2ーフラニルメチル)ー4ー(3ークロロー4

— (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7-メトキシ— 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-フルオロ— 4- (エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) — 7-メトキシ— 6-キノリンカルボキサミド、

5 4- (3-クロロ— 4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((2R) — 2-ヒドロキシ— 3- (1-ピロリジノ) プロポキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((2R) — 3-ジエチルアミノ— 2-ヒドロキシプロポキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

10 N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((2R) — 3-ジエチルアミノ— 2-ヒドロキシプロポキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

15 N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((2R) — 2-ヒドロキシ— 3- (1-ピロリジノ) プロポキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((2R) — 2-ヒドロキシ— 3- (1-ピロリジノ) プロポキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

20 N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((1-メチル— 4-ピペリジル) メトキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

25 N 6-メチル— 4- (3-クロロ— 4- (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) — 7- ((1-メチル— 4-ピペリジル) メトキシ) — 6-キノリンカルボキサミド、

N- (4- (6-シアノ— 7- (2-メトキシエトキシ) — 4-キノリル) オキシ— 2-フルオロフェニル) — N' — シクロプロピルウレア、

N- (4- (6-シアノ— 7- (3- (4-モルホリノ) プロポキシ) — 4-

キノリル) オキシフェニル) -N' - (3 - (メチルスルホニル) フェニル) ウレア、

4 - (4 - ((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

5 4 - (3 - フルオロ - 4 - ((2 - フルオロエチルアミノ) カルボニル) アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

N 6 - (2 - エトキシエチル) - 4 - (3 - クロロ - 4 - ((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

10 4 - (4 - (3 - エチルウレイド) - 3 - フルオロ - フェノキシ) - 7 - メトキシキノリン - 6 - カルボキシリック アシッド (2 - シアノエチル) アミド
および

N - (4 - (6 - (2 - シアノエチル) カルバモイル - 7 - メトキシ - 4 - キノリル) オキシ - 2 - フルオロフェニル) - N' - シクロプロピルウレア

15 を挙げることができる。

さらに、一般式 (II) で表される化合物のより好適な例としては、

4 - (3 - クロロ - 4 - (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

4 - (3 - クロロ - 4 - (エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7
20 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

N 6 - メトキシ - 4 - (3 - クロロ - 4 - ((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

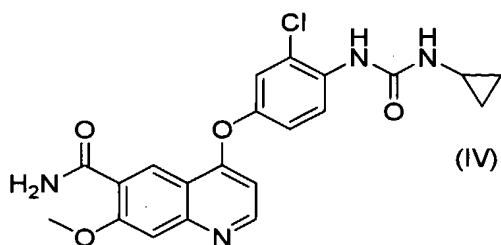
4 - (3 - クロロ - 4 - (メチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7
- メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド

25 および

N 6 - メトキシ - 4 - (3 - クロロ - 4 - ((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミドを挙げることができる。

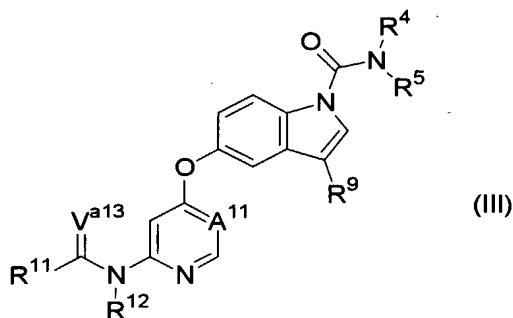
また、一般式 (II) で表される化合物のさらに好適な例としては、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メ

- 5 トキシ-6-キノリンカルボキサミド (式 (IV) 参照) を挙げることができる。
VEGF レセプターキナーゼ阻害物質の最も好適な例の一つとしては、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メ



- 一般式 (II) で表される化合物は、公知の方法で製造でき、例えば、国際公開
第 02/32872 号パンフレット (W002/32872) および国際公開第 2005/
10 063713 号パンフレット (W02005/063713) のいずれかに記載された方法によ
って製造することができる。

本発明において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、好ましくは、
一般式 (III)



- 15 で表される化合物を挙げることができる。一般式 (III) は、一般式 (I) で表さ
れる化合物の好ましい例である。

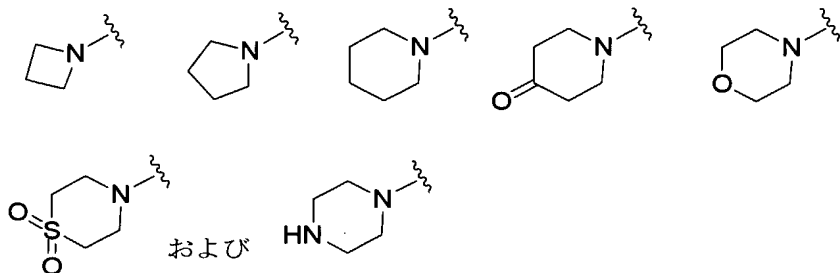
(i) R^{11}

R^{11} は、前記定義と同じ意味である。

- R^{11} の好適な例としては、置換基を有していてもよい 3~10 員非芳香族ヘテ
20 ロ環式基または置換基を有していてもよいモノ- C_{1-6} アルキルアミノ基があげ

られる。

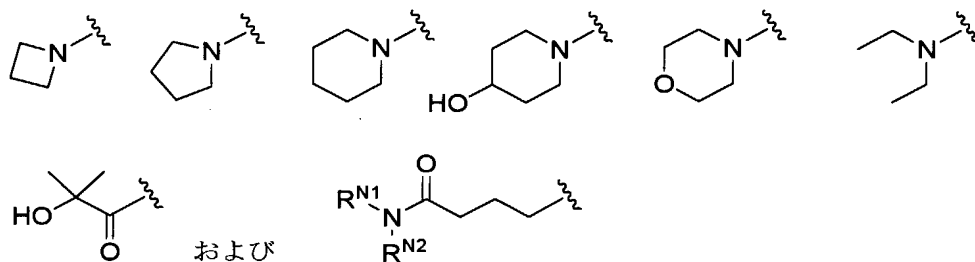
R^{11} のより好適な例としては、以下の置換基群から選ばれる置換基を有しているてもよい式



5 で表される基から選ばれるいずれか 1 の基があげられる。

[置換基群]

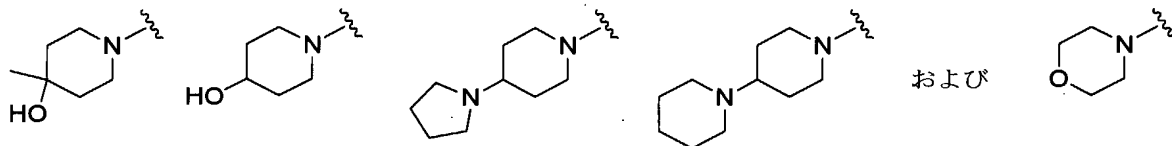
水酸基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、式



(式中、 R^{N1} および R^{N2} はそれぞれ独立して水素原子または置換基を有していて

10 もよい C_{1-6} アルキル基を意味する。) で表される基

R^{11} のさらに好適な例としては、式



で表される基から選ばれるいずれか 1 の基があげられる。

(ii) R^{12}

15 R^{12} は、前記定義と同じ意味である。

R^{12} の好適な例としては、水素原子があげられる。

(iii) V^{a13}

V^{a13} は、前記定義と同じ意味である。

V^{a13} の好適な例としては、酸素原子があげられる。

(iv) A^{11}

A^{11} は、前記定義と同じ意味である。

A^{11} の好適な例としては、炭素原子があげられる。

5 (v) R^4

R^4 は、前記定義と同じ意味である。

R^4 の好適な例としては、水素原子があげられる。

(vi) R^5

R^5 は、前記定義と同じ意味である。

10 R^5 の好適な例としては、 C_{1-6} アルキル基または C_{3-8} シクロアルキル基があげられる。

R^5 のより好適な例としては、メチル基があげられる。

(vii) R^9

R^9 は、前記定義と同じ意味である。

15 R^9 の好適な例としては、水素原子があげられる。

また、一般式 (III) で表される化合物の好適な例としては、

5 - (2 - (((4 - ヒドロキシ - 4 - メチルピペリジン - 1 - イル) カルボニル) アミノ) ピリジン - 4 - イルオキシ) - 1 H - インドール - 1 - カルボン酸メチルアミド、

20 N1 - メチル - 5 - (2 - ((4 - ヒドロキシピペリジノ) カルボニル) アミノ - 4 - ピリジル) オキシ - 1 H - 1 - インドールカルボキサミド、

N1 - メチル - 5 - (2 - (((4 - (ピロリジン - 1 - イル) ピペリジン - 1 - イル) カルボニル) アミノ) ピリジン - 4 - イルオキシ) - 1 H - 1 - インドールカルボキサミド、

25 N1 - メチル - 5 - (2 - (((4 - (ピペリジン - 1 - イル) ピペリジン - 1 - イル) カルボニル) アミノ) ピリジン - 4 - イルオキシ) - 1 H - 1 - インドールカルボキサミド

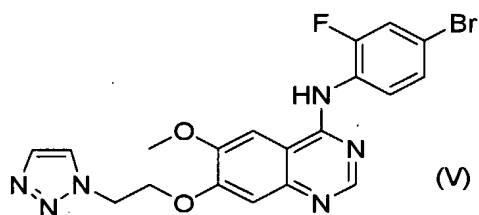
および

N4 - (4 - (1 - (メチルアミノ) カルボニル - 1 H - 5 - インドリル) オキシ - 2 - ピリジル) - 4 - モルホリンカルボキサミドを挙げることができる。

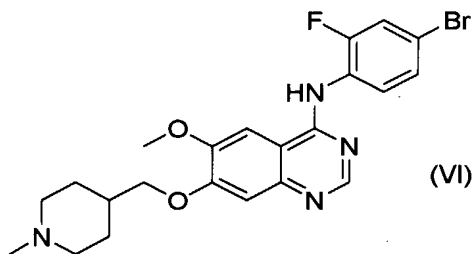
一般式 (III) で表される化合物は、公知の方法で製造でき、例えば、国際公開
5 第 2004/020434 号パンフレット (W02004/020434) に記載された方法によって製造することができる。

また、本発明において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、

(1) N - (4 - ブロモ - 2 - フルオロフェニル) - 6 - メトキシ - 7 - [2 - (1 H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) エトキシ] キナゾリン - 4 - ア
10 ミン (以下、「ZD4190」ともいう。Cancer Research., 60, 970-975, 2000、Journal of Medicinal Chemistry., 42: 5369-5389, 1999.) (式 (V) 参照)、

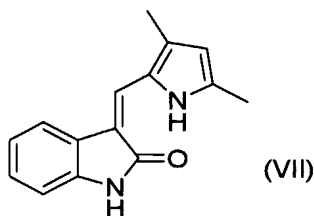


(2) N - (4 - ブロモ - 2 - フルオロフェニル) - 6 - メトキシ - 7 - [(1 - メチルピペリジン - 4 - イル) メトキシ] キナゾリン - 4 - アミン (以下、「ZD6474」
15 および「vandetanib」ともいう。Proc. Am. Assoc. Cancer Research., 42, 583, 2001、Journal of Medicinal Chemistry., 45: 1300-1312, 2002.) (式 (VI) 参照)、

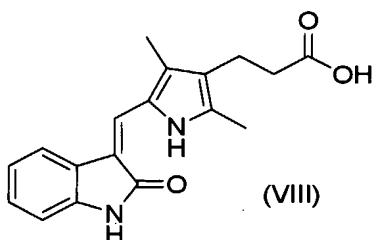


(3) 3 - [(2, 4 - ジメチルピロール - 5 - イル) メチレン] - 2 - インドリ
20 ノン (以下、「SU5416」および「semaxanib」ともいう。Cancer Research., 59, 99-106, 1999、Journal of Medicinal Chemistry., 41: 2588-2603, 1998.、US5792783)

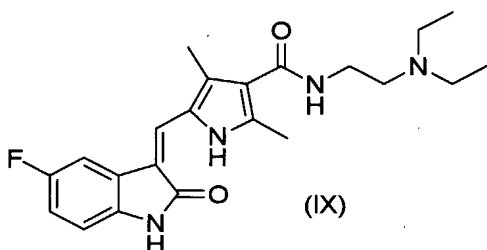
(式 (VII) 参照)、



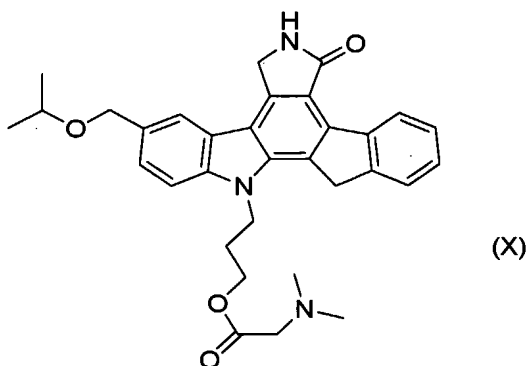
(4) (Z) - 3 - [(2, 4 - ジメチル - 5 - (2 - オキソ - 1, 2 - ジヒドロインドール - 3 - イリデンメチル) - 1 H - ピロール - 3 - イル) - プロピオニック
5 ク アシッド (以下、「SU6668」ともいう。Cancer Research., 60, 4152-4160, 2000、
Journal of Medicinal Chemistry., 42: 5120-5130, 1999.) (式 (VIII) 参照)、



(5) 5 - (5 - フルオロ - 2 - オキソ - 1, 2 - ジヒドロインドール - 3 - イ
リデンメチル) - 2, 4 - ジメチル - 1 H - ピロール - 3 - カルボキシリック ア
10 シッド (2 - ジエチルアミノエチル) アミド (以下、「SU11248」ともいう。Clinical
Cancer Research, 9, 327-337, 2003、Journal of Medicinal Chemistry., 46:
1116-9, 2003.、W001/060814) (式 (IX) 参照)、



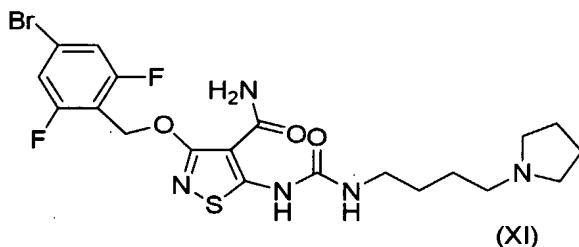
(6) N, N - ジメチルグリシン 3 - {5, 6, 7, 13 - テトラヒドロ - 9 -
15 [(1 - メチルエトキシ) メチル] - 5 - オキソ - 1, 2 H - インデノ (2, 1 - a)
ピロロ (3, 4 - c) カルバゾール - 1, 2 - イル} プロピルエステル (以下、
「CEP-7055」ともいう。Pro. Am. Assoc. Cancer Research, 43, 1080, 2002、Journal
of Medicinal Chemistry., 46: 5375-88, 2003.) (式 (X) 参照)、



(X)

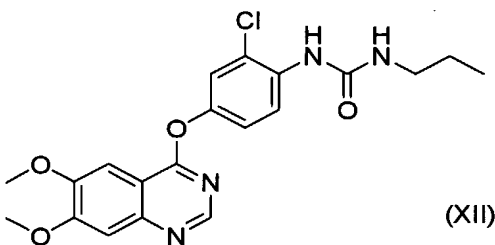
(7) 3-(4-ブロモ-2, 6-ジフルオロベンジルオキシ)-5-[3-(4-ピロリジン-1-イル-ブチル)-ウレイド]-イソチアゾール-4-カルボキシリック アシッド アミド(以下、「CP-547, 632」ともいう。Cancer Research.

5 63:7301-9, 2003、WO 99/62890) (式 (XI) 参照)、



(XI)

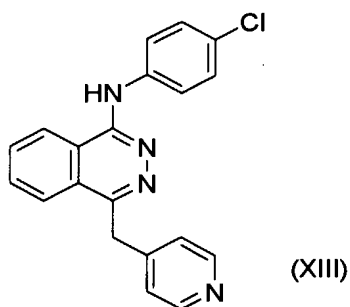
(8) N-{2-クロロ-4-[(6, 7-ジメトキシ-4-キナゾリニル) オキシ]フェニル}-N'-プロピルウレア(以下、「KRN633」ともいう。Molecular Cancer Therapeutics., 3:1639-49, 2004、W000/43366) (式 (XII) 参照)、



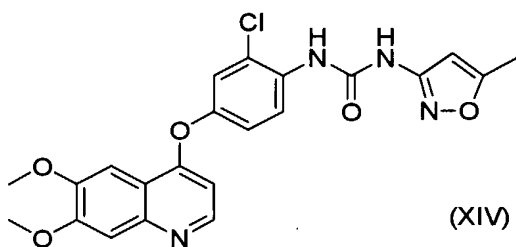
(XII)

10

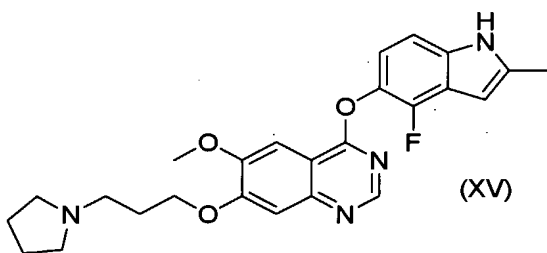
(9) 1-(4-クロロアニリノ)-4-(4-ピリジルメチル) フタラジン (以下、「PTK787/ZK222584」および「vatalanib」ともいう。Cancer Research, 60, 2179-2189, 2000、J. Med. Chem., 43:2310-23, 2000、W098/35958) (式 (XIII) 参照)、



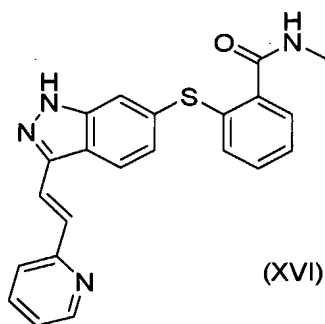
(10) N- {2-クロロ-4-[(6,7-ジメトキシ-4-キノリル)オキシ]フェニル}-N'-(5-メチル-3-イソキサゾリル)ウレア (以下、「KRN951」ともいう。W002/088110) (式 (XIV) 参照)、



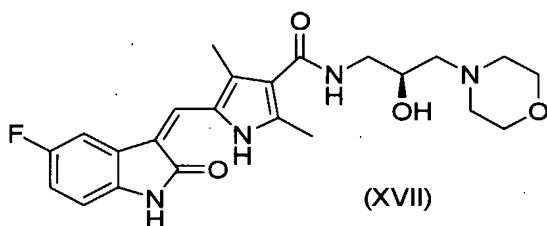
5 (11) 4-[(4-フルオロ-2-メチルインドール-5-イル)オキシ]-6-メトキシ-7-[3-(ピロリジン-1-イル)プロポキシ]キナゾリン (以下、「AZD2171」ともいう。Cancer Research. 65:4389-400, 2005、W000/47212) (式 (XV) 参照)、



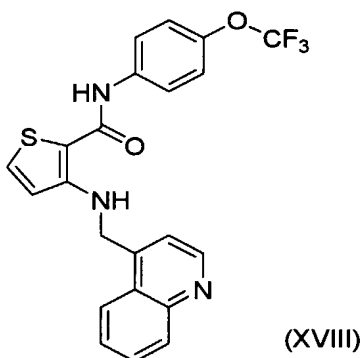
10 (12) 6-[2-(メチルカルバモイル)フェニルスルファニル]-3-E-[2-(ピリジン-2-イル)エテニル]インダゾール (以下、「AG013736」ともいう。American Journal of Pathology. 165:35-52, 2004.、W001/002369) (式 (XVI) 参照)、



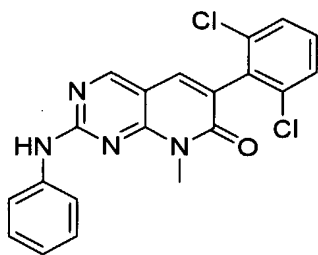
(13) 5-((Z)-(5-フルオロ-2-オキソ-1,2-ジヒドロ-3H-インドール-3-イリデン)メチル)-N-((2S)-2-ヒドロキシ-3-モルホリン-4-イルプロピル)-2,4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキサミド (以下、「SU14813」ともいう。Proceedings of the American Association for Cancer Research, 46, (Abstract 2031), 2005) (式 (XVII) 参照)、



(14) 3-((キノリン-4-イルメチル)アミノ)-N-(4-(トリフルオロメトキシ)フェニル)チオフェン-2-カルボキサミド (以下、「OSI930」ともいう。Molecular Cancer Therapeutics., 4:1186-1197, 2005.) (式 (XVIII) 参照)、



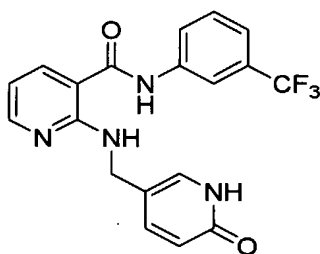
(15) 6-(2,6-ジクロロフェニル)-8-メチル-2-フェニルアミノ-8H-ピリド[2,3-d]ピリミジン-7-オン (以下、「TKI-28」ともいう。Cancer Biol Ther., 4, 2005.) (式 (XIX) 参照)、



(XIX)

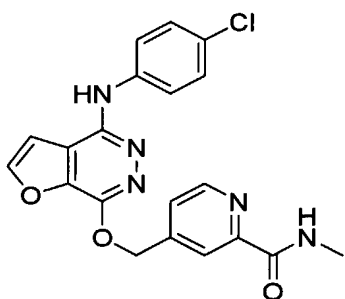
(16) 2-((1,6-ジヒドロ-6-オキソ-ピリジン-3-イルメチル)アミノ)-N-(3-(トリフルオロメチル)フェニル)-3-ピリジン-カルボキサミド(以下、「ABP309」ともいう。EORTC-NCI-AACR Symp Mol Targets Cancer Ther.,

5 2, (Abstract 172), 2004.) (式 (XX) 参照)、



(XX)

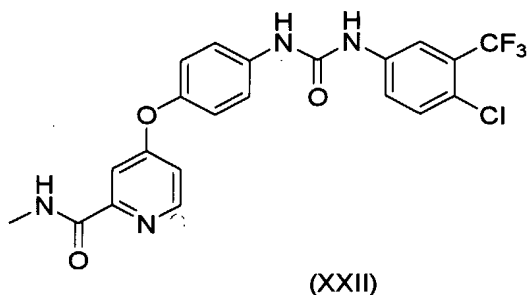
(17) 4-(4-(4-クロロフェニルアミノ)-フロ[2,3-d]ピリダジン-7-イルオキシメチル)-ピリジン-2-カルボキシリック アシッドメチルアミド(以下、「BAY 57-9352」ともいう。W001/23375) (式 (XXI) 参照)、



(XXI)

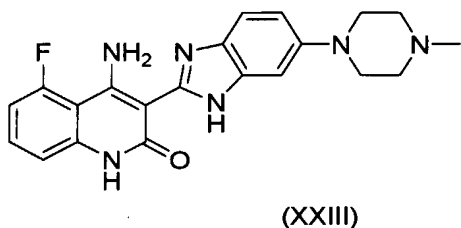
10

(18) N-(3-トリフルオロメチル-4-クロロフェニル)-N'-(4-(2-メチルカルバモイルピリジン-4-イル)オキシフェニル)ウレア(以下、「BAY 43-9006」および「sorafenib」ともいう。Cancer Research., 64, 7099-7109, 2004, Organic Process Res Dev., 6, 777-81, 2002.) (式 (XXII) 参照)、



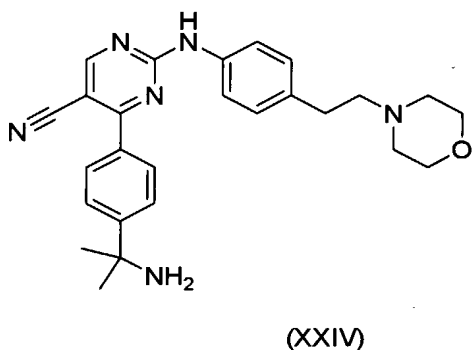
(19) 4-アミノ-5-フルオロ-3-(6-(4-メチルピペラジン-1-イル)-1H-ベンズイミダゾール-2-イル)-1H-キノリン-2-オン(以下、「CHIR258」ともいう。Clinical Cancer Research., 11, 3633-3641, 2005.)

5 (式 (XXIII) 参照)、



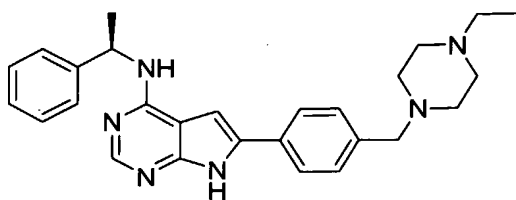
(20) 4-(4-(1-アミノ-1-メチルエチル)フェニル)-2-(4-(2-モルホリン-4-イルエチル)フェニルアミノ)ピリミジン-5-カルボニトリル(以下、「JNJ17029259」ともいう。Molecular Pharmacology., 66,

10 635-647, 2004.) (式 (XXIV) 参照)、



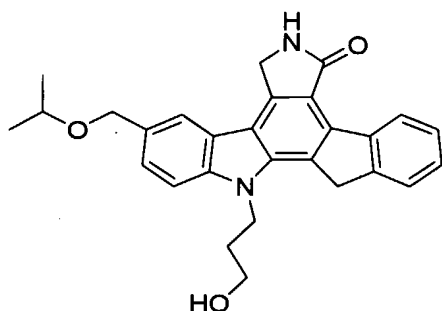
(21) [6-[4-[(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル]フェニル]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-イル]-(R)-1-フェニルエチルアミン(以下、「AEE-788」ともいう。Cancer Research., 64, 4931-4941, 2004.、

15 Cancer Research., 64, 7977-7984, 2004.) (式 (XXV) 参照)、



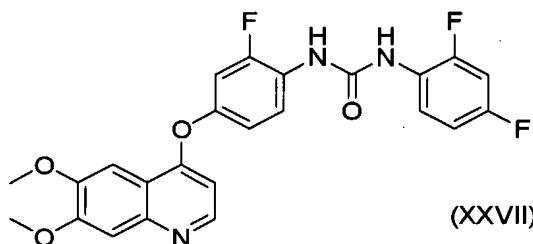
(XXV)

(22) 9-(1-メチルエトキシ)メチル-12-(3-ヒドロキシプロピル)-6H,7H,13H-インデノ[2,1-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5-オン (以下、「CEP-5214」ともいう。Journal of Medicinal Chemistry., 46, 5375-5388, 2003.、Cancer Research., 63, 5978-5991, 2003.) (式 (XXVI) 参照)、



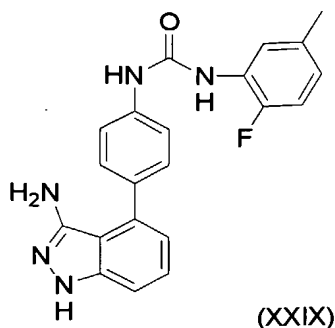
(XXVI)

(23) N-(2,4-ジフルオロフェニル)-N'-{4-[(6,7-ジメトキシ-4-キノリル)-オキシ]-2-フルオロフェニル}ウレア (以下、「KI-8751」ともいう。Journal of Medicinal Chemistry., 48, 1359-1366, 2005.) (式 (XXVII) 参照)、

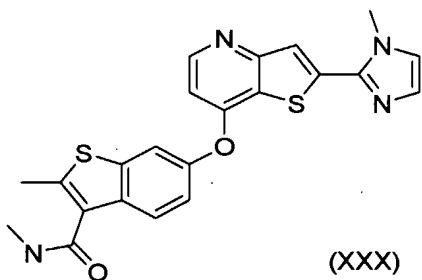


(XXVII)

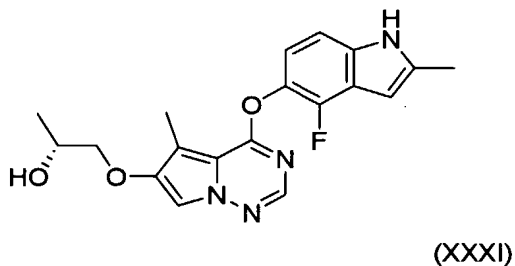
(24) N-[4-(3-アミノ-1H-インダゾール-4-イル)フェニル]-N'-(2-フルオロ-5-メチルフェニル)ウレア (以下、「ABT-869」ともいう。Proceedings of the American Association for Cancer Research., 46, 1407, (Abstract 5981), 2005.) (式 (XXIX) 参照)、



(25) 2-メチル-6-[2-(1-メチル-1H-イミダゾール-2-イル)-
 チエノ[3, 2-b]ピリジン-7-イルオキシ]-ベンゾ[b]チオフェン-
 3-カルボキシリック アシッド メチルアミド (以下、「AG-028262」ともい
 5 う。W003/06462、US2004/009965) (式 (XXX) 参照)、

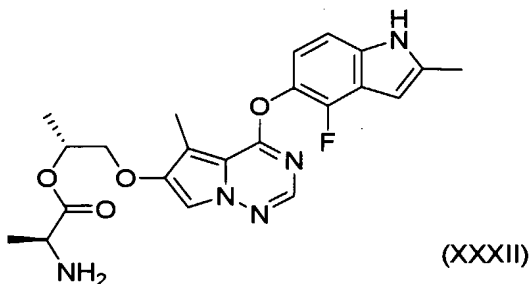


(26) (R) - 1 - (4 - (4 - フルオロ - 2 - メチル - 1H - インドール - 5 -
 イルオキシ) - 5 - メチルピロロ[1, 2-f][1, 2, 4]トリアジン-6-
 イルオキシ) プロパン-2-オール (以下、「BMS-540215」ともいう。Proceedings
 10 of the American Association for Cancer Research., 46, (Abstract 3033), 2005.)
 (式 (XXXI) 参照)、



(27) (S) - ((R) - 1 - (4 - (4 - フルオロ - 2 - メチル - 1H - インドール -
 5 - イルオキシ) - 5 - メチルピロロ[1, 2-f][1, 2, 4]トリアジ
 15 ン-6-イルオキシ) プロパン-2-オール) 2-アミノプロパノエート (以下、

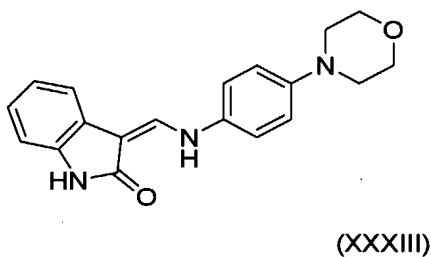
「BMS-582664」ともいう。Proceedings of the American Association for Cancer Research., 46, (Abstract 3033), 2005.) (式 (XXXII) 参照)、



(28) 3-[(4-モルホリン-4-イルフェニルアミノ)-メチレン]-1,

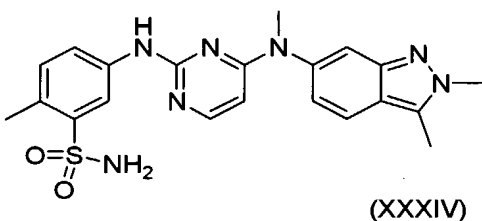
5 3-ジヒドロインドール-2-オン (以下、「AGN-199659」ともいう。

W02003/027102) (式 (XXXIII) 参照)、



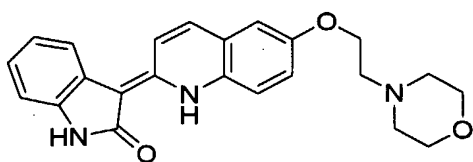
(29) 5-[[4-[(2,3-ジメチル-2H-インダゾール-6-イル)メチルアミノ]ピリミジン-2-イル]アミノ]-2-メチルベンゼンスルホンアミ

10 ド(以下、「pazopanib」または「GW-786034」ともいう。Proc. Am. Soc. Clin. Oncology, (Abstract 3054), 2004.) (式 (XXXIV) 参照)、



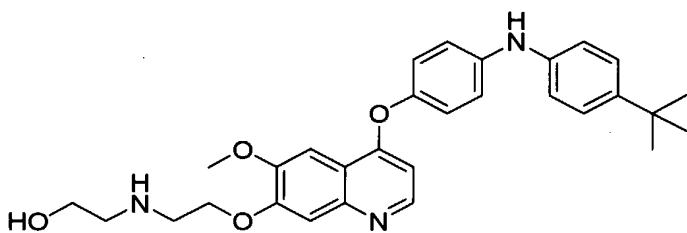
(30) (3Z)-3-[6-(2-モルホリン-4-イルエトキシ)キノリン-2(1H)-イリデン]-1,3-ジヒドロ-2H-インドール-2-オン (以下、

15 「YM-231146」ともいう。Biological and Pharmaceutical Bulletin. 28:2096-2101, 2005.) (式 (XXXV) 参照)、



(XXXV)

(31) 2-((2-((4-(4-(4-(tert-butyl)アニリノ)フェノキシ)-6-メトキシ-7-キノリル)オキシ)エチル)アミノ)-1-エタノール (以下、「KI-23057」ともいう。W02003/033472) (式 (XXXVI) 参照)、



(XXXVI)

5

などを挙げることができる。

上記 ZD4190、ZD6474、SU5416、SU6668、SU11248、CEP-7055、CP-547, 632、KRN633、PTK787/ZK222584、KRN951、AZD2171、AG013736、SU14813、OSI930、TKI-28、ABP309、BAY 57-9352、BAY 43-9006、CHIR258、JNJ17029259、AEE-788、CEP-5214、KI-8751、
 10 ABT-869、AG-028262、BMS-540215、BMS-582664、AGN-199659、pazopanib、YM-231146
 および KI-23057 は、公知の方法で製造することができ、例えば、それぞれの文献
 に記載された方法で製造することができる。

また、本発明において、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、BIBF1120
 (W001/27081)、ZK304709 (Proceedings of the American Association for Cancer
 15 Research, 46, (Abstract 5842), 2005.)、Exel7647 (EORTC-NCI-AACR Symp Mol
 Targets Cancer Ther., (Abstract 134), 2004.)、AMG706 (EORTC-NCI-AACR Symp
 Mol Targets Cancer Ther., 2, (Abstract 151), 2004.) および GW-654652
 (Blood., 103, 3474-3479, 2004.、Proceedings of the American Association for
 Cancer Research, 44, 9, (Abstract 39), 2003.、Proceedings of the American
 20 Association for Cancer Research, 44, 9, (Abstract 40), 2003.) などを挙げ
 ることができる。BIBF1120、ZK304709、Exel7647、AMG706 および GW-654652 は、

公知の方法で製造することができる。

(C) 抗 VEGF レセプター抗体

本発明において、VEGF 阻害物質は、例えば、抗 VEGF レセプター抗体を挙げること
5 ができる。抗 VEGF レセプター抗体は、VEGF レセプターまたはその部分断片と
親和性を有する抗体である。抗 VEGF レセプター抗体は、VEGF レセプターを認識
し結合することで、VEGF の活性、例えば、血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和
抗体であることが好ましい。抗 VEGF レセプター抗体の作製は、後述の抗 VEGF 抗
10 体の製造方法と同様にして作製することができる。抗 VEGF レセプター抗体は、ポ
リクローナル抗体でも、モノクローナル抗体であってもよい。また、当該抗体の
アイソタイプは特に限定されない。また、抗 VEGF レセプター抗体は、抗体の断片
または一本鎖抗体であってもよい（後述の抗 VEGF 抗体の記載を参照）。

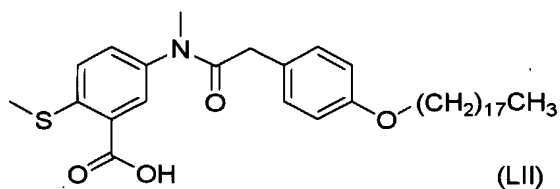
抗 VEGF レセプター抗体は、好ましくは 2C3 antibody (US6524583, US6676941)、
IMC-1121b (US6811779)、IMC-18F1 (Proceedings of the American Association for
15 Cancer Research, 45, 694, (Abstract 3005), 2004.)、IMC-1C11 (US5747651)、
IMC-2C6 (Proceedings of the American Association for Cancer Research, 44,
1479, (Abstract 6454), 2003.) などを挙げることができる。2C3 antibody、
IMC-1121b、IMC-18F1、IMC-1C11、IMC-2C6 は、公知の方法で製造することができ、
例えば、それぞれの文献に記載された方法で製造することができる。

20

(D) その他の VEGF 阻害物質

本発明において、VEGF 阻害物質は、例えば、PI88、AVE-0005 (Proc. Am. Soc. Clin.
Oncology, (Abstract 776), 2003.)、EG-3306 (Biochem Biophys Res Commun., 302,
793-799, 2003.)、RPI-4610 (Angiozyme (登録商標)、US5180818、US6346398)、
25 2-(8-ヒドロキシ-6-メトキシ-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-
3-イル)プロピオニック アシッド (以下、「NM-3」ともいう。W097/48693)、
5-[N-メチル-N-(4-オクタデシルオキシフェニル)アセチル]アミノ-2-
メチルチオベンゾイック アシッド (以下、「VGA-1155」ともいう。Anticancer

Research., 24, 3009-3017, 2004.) (式 (LII) 参照)、



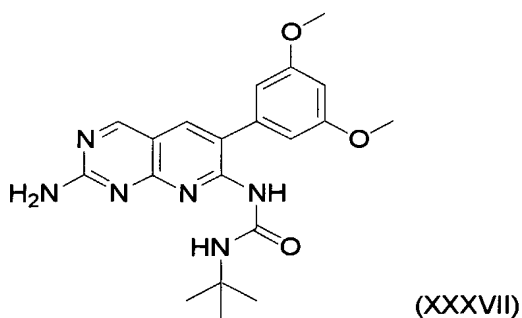
VEGF trap (The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 86(7), 3377-3386, 2001.), pegaptanib sodium (Macugen (登録商標))などを挙げるこ
 5 とができる。PI88、AVE-0005、EG-3306、RPI-4610、NM-3、VGA-1155 および VEGF trap は、公知の方法で製造することができ、例えば、それぞれの文献に記載された方法で製造することができる。また、pegaptanib sodium は、ファイザー社から Macugen を購入することによって、入手することができる。

10 (E) FGF レセプターキナーゼ阻害物質

本発明において、FGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、

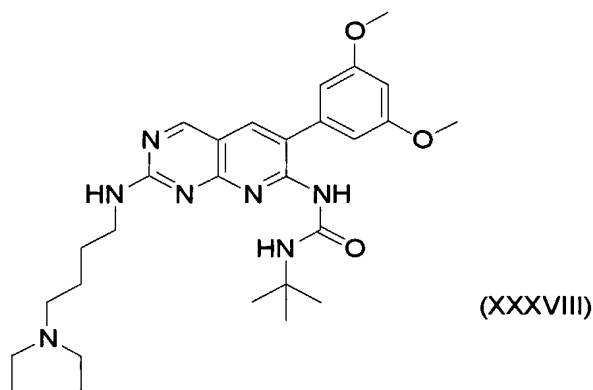
(1) 1-[2-アミノ-6-(3,5-ジメトキシフェニル)-ピリド(2,3-d)ピリミジン-7-イル]-3-tert-ブチルウレア (以下、「PD166866」
 ともいう。Journal of Medicinal Chemistry., 40, 2296-2303, 1997) (式 (XXXVII)

15 参照)、



(2) 1-tert-ブチル-3-[2-(4-ジエチルアミノ)ブチルアミノ-6-(3,5-ジメトキシフェニル)-ピリド(2,3-d)ピリミジン-7-イル]ウレア (以下、「PD173074」ともいう。EMBO J., 17, 5896-5904, 1998、US5733913)

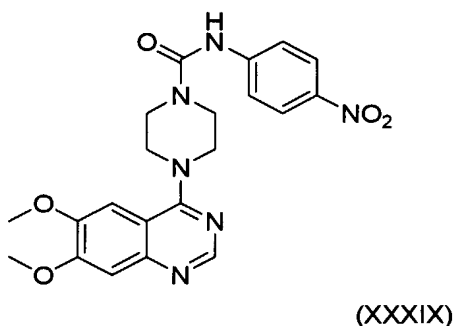
20 (式 (XXXVIII) 参照)、



(3) (S) - ((R) - 1 - (4 - (4 - フルオロ - 2 - メチル - 1H - インドール - 5 - イルオキシ) - 5 - メチルピロロ [1, 2 - f] [1, 2, 4] トリアジン - 6 - イルオキシ) プロパン - 2 - オール) 2 - アミノプロパノエート

5 (BMS-582664) (式 (XXXII) 参照)、

(4) 4 - [4 - [N - (4 - ニトロフェニル) カルバモイル] - 1 - ピペラジニル] - 6, 7 - ジメトキシキナゾリン (以下、「CT-052923」ともいう。W098/14437) (式 (XXXIX) 参照)、



10 (5) 4 - アミノ - 5 - フルオロ - 3 - (6 - (4 - メチル - ピペラジン - 1 - イル) - 1H - ベンズイミダゾール - 2 - イル) - 1H - キノリン - 2 - オン (CHIR258) (式 (XXIII) 参照)、

(6) 2 - ((2 - ((4 - (4 - (4 - (tert - ブチル) アニリノ) フェノキシ) - 6 - メトキシ - 7 - キノリル) オキシ) エチル) アミノ) - 1 - エタノール (KI-23057) (式 (XXXVI) 参照)、

(7) (Z) - 3 - [(2, 4 - ジメチル - 5 - (2 - オキソ - 1, 2 - ジヒドロインドール - 3 - イリデンメチル) - 1H - ピロール - 3 - イル) - プロピオニッ

ク アシッド (SU6668) (式 (VIII) 参照) などを挙げることができる。

PD166866、PD173074、BMS-582664、CT-052923、CHIR258、KI-23057 および SU6668 は、公知の方法で製造することができ、例えば、それぞれの文献に記載された方法で製造することができる。

5

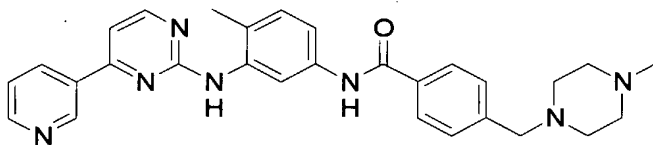
(F) 抗 FGF レセプター抗体

本発明において、FGF 阻害物質は、例えば、抗 FGF レセプター抗体を挙げることができる。抗 FGF レセプター抗体は、FGF レセプターまたはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 FGF レセプター抗体は、FGF レセプターを認識し結合することで、FGF の活性、例えば、血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。抗 FGF レセプター抗体の作製は、後述の抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。抗 FGF レセプター抗体は、ポリクローナル抗体でも、モノクローナル抗体であってもよい。また、当該抗体のアイソタイプは特に限定されない。また、抗 FGF レセプター抗体は、抗体の断片または一本鎖抗体であってもよい（後述の抗 VEGF 抗体の記載を参照）。

(G) PDGF レセプターキナーゼ阻害物質

本発明において、PDGF 阻害物質は、例えば、PDGF レセプターキナーゼ阻害物質を挙げることができる。PDGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、

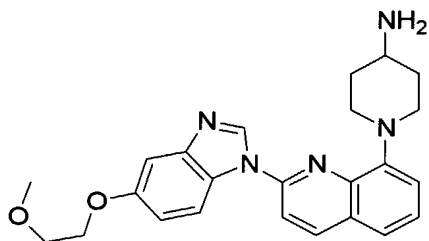
(1) 4- (4-メチルピペラジン-1-イルメチル) -N- [4-メチル-3- [4- (3-ピリジル) ピリミジン-2-イルアミノ] フェニル] ベンゼンアミド (以下、「イマチニブ」ともいう。) (式 (XL) 参照)、



(XL)

(2) 6- [2- (メチルカルバモイル) フェニルスルファニル] -3- E- [2- (ピリジン-2-イル) エテニル] インダゾール (AG013736) (式 (XVI) 参照)、

(3) 1 - { 2 - [5 - (2 - メトキシ - エトキシ) - ベンゾイミダゾール - 1 - イル] - キノリン - 8 - イル } - ピペリジン - 4 - イルアミン (以下、「CP-673451」ともいう。W02001/040217、Cancer Research., 65, 957-966, 2005.) (式 (XLI) 参照)、



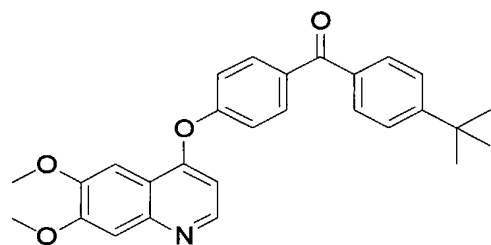
5

(XLI)

(4) 4 - [4 - [N - (4 - ニトロフェニル) カルバモイル] - 1 - ピペラジニル] - 6, 7 - ジメトキシキナゾリン (CT-052923) (式 (XXXIX) 参照)、

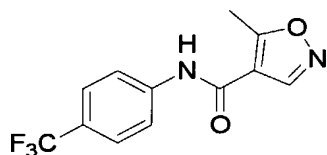
(5) 4 - アミノ - 5 - フルオロ - 3 - (6 - (4 - メチル - ピペラジン - 1 - イル) - 1H - ベンゾイミダゾール - 2 - イル) - 1H - キノリン - 2 - オン
10 (CHIR258) (式 (XXIII) 参照)、

(6) (4 - tert - ブチルフェニル) { 4 - [(6, 7 - ジメトキシ - 4 - キノリル) オキシ] フェニル } メタンオン (以下、「KI-6896」ともいう。Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters., 7, 2935-2940, 1997.) (式 (XLIII) 参照)、



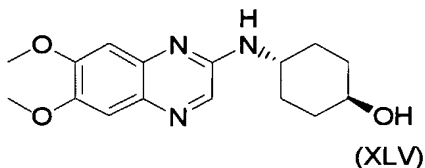
(XLIII)

15 (7) 5 - メチル - N - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 4 - イソキサゾールカルボキサミド (以下、「leflunomide」ともいう。) (式 (XLIV) 参照)、



(XLIV)

(8) trans-4-[(6,7-ジメトキシキノキサリン-2-イル)アミノ]シクロヘキサノール (以下、「RPR-127963E」ともいう。) (式 (XLV) 参照)、



5 (9) (Z)-3-[(2,4-ジメチル-5-(2-オキソ-1,2-ジヒドロインドール-3-イルイリデンメチル)-1H-ピロール-3-イル)-プロピオン酸 (SU6668) (式 (VIII) 参照)、

(10) 5-(5-フルオロ-2-オキソ-1,2-ジヒドロインドール-3-イルイリデンメチル)-2,4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック酸 (2-ジエチルアミノエチル) アミド (SU11248) (式 (IX) 参照)、

10 (11) 1-(4-クロロアニリノ)-4-(4-ピリジルメチル) フタラジン (PTK787/ZK222584) (式 (XIII) 参照)、

(12) N-[4-(3-アミノ-1H-インダゾール-4-イル)フェニル]-N'-(2-フルオロ-5-メチルフェニル) ウレア (ABT-869) (式 (XXIX) 参照) などを挙げるができる。

15 イマチニブ、AG013736、CP-673451、CT-052923、CHIR258、KI-6896、leflunomide、RPR-127963E、SU6668、SU11248、PTK787/ZK222584 および ABT-869 は、公知の方法で製造することができ、例えば、それぞれの文献に記載された方法で製造することができる。

20 また、イマチニブは、ノバルティス社からグリベック (登録商標) を購入することによって、入手することができる。

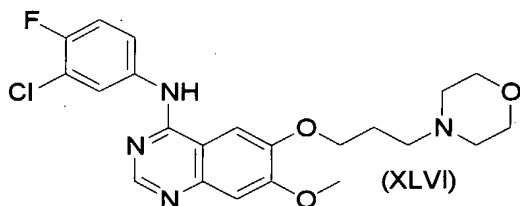
(H) 抗 PDGF レセプター抗体

本発明において、PDGF 阻害物質は、例えば、抗 PDGF レセプター抗体を挙げる
25 ことができる。抗 PDGF レセプター抗体は、PDGF レセプターまたはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 PDGF レセプター抗体は、PDGF レセプターを認識し結合することで、PDGF の活性、例えば、血管内皮細胞増殖活性を阻害する中

和抗体であることが好ましい。抗 PDGF レセプター抗体の作製は、後述の抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。抗 PDGF レセプター抗体は、ポリクローナル抗体でも、モノクローナル抗体であってもよい。また、当該抗体のアイソタイプは特に限定されない。また、抗 PDGF レセプター抗体は、抗体の断片または一本鎖抗体であってもよい（後述の抗 VEGF 抗体の記載を参照）。

(I) EGF レセプターキナーゼ阻害物質

本発明において、EGF 阻害物質は、例えば、EGF レセプターキナーゼ阻害物質を挙げることができる。EGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、ゲフィチニブおよびその誘導体を挙げることができる。ゲフィチニブとは、4-（3-クロロ-4-フルオロフェニルアミノ）-7-メトキシ-6-（3-（4-モルホリノ）プロポキシ-キナゾリン）をいい、その構造式を以下の式（XLVI）に示す。

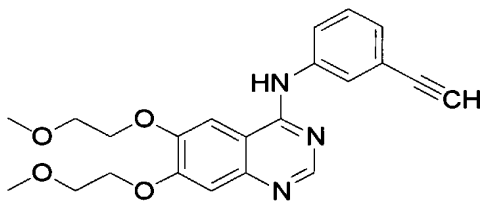


また、ゲフィチニブの誘導体とは、国際公開第 96/33980 号パンフレット（W096/33980）に記載されている化合物を挙げることができる。

ゲフィチニブおよびその誘導体は、公知の方法で製造でき、例えば、国際公開第 96/33980 号パンフレット（W096/33980）、特許第 3040486 号（JP3040486）および米国特許第 5770599 号明細書（US5770599）のいずれかに記載された方法によって製造することができる。

また、ゲフィチニブは、アストラゼネカ社から Iressa（登録商標）を購入することによって、入手することができる。

本発明において、EGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、エルロチニブおよびその誘導体を挙げることができる。エルロチニブとは、4-（3-エチルフェニルアミノ）-6,7-ビス（2-メトキシエトキシ）-キナゾリンをいい、その構造式を以下の式（XLVII）に示す。



(XLVII)

また、エルロチニブの誘導体とは、国際公開第 9 6 / 3 0 3 4 7 号パンフレット (W096/30347) に記載されている化合物を挙げることができる。

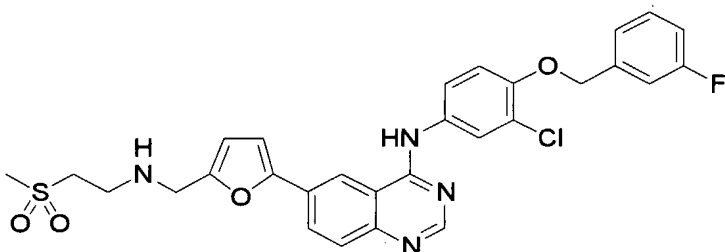
エルロチニブおよびその誘導体は、公知の方法で製造でき、例えば、国際公開
5 第 9 6 / 3 0 3 4 7 号パンフレット (W096/30347)、特許第 3 0 8 8 0 1 8 号 (JP3088018) および特許 3 4 2 0 5 4 9 号 (JP3420549) のいずれかに記載された方法によって製造することができる。

また、エルロチニブは、ジェネンテック社 (Genentech 社) から Tarceva (登録商標) を購入することによって、入手することができる。

10 また、本発明において、EGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、

(1) N-[3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル) オキシ]フェニル]-6-[5-[[[2-(メチルスルホニル) エチル]アミノ]メチル]フラン-2-イル]キナゾリン-4-アミン

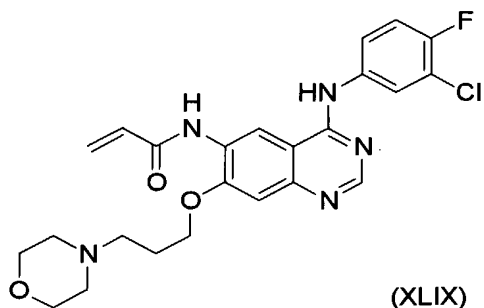
(N-[3-chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phenyl]-6-[5-[[[2-(methylsulfonyl)ethyl]amino]methyl]furan-2-yl]quinazolin-4-amine) (以下、「lapatinib」ともいう。国際公開第 9 9 / 3 5 1 4 6 号パンフレット (W099/35146)、Cancer Research., 64, 6652-6659. 2004.) (式 (XLVIII) 参照)、
15



(XLVIII)

(2) N-[4-[N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-
20 -モルホリニル) プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド

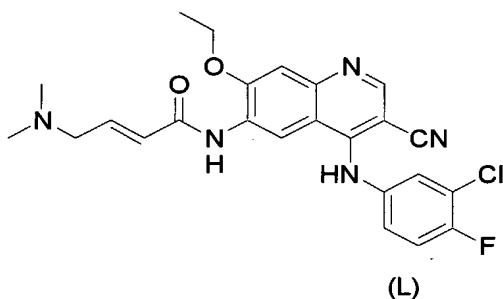
(N-[4-[N-(3-chloro-4-fluorophenyl)amino]-7-[3-(4-morpholinyl)propoxy]quinazolin-6-yl]acrylamide) (以下、「canertinib」ともいう。Clinical Cancer Research., 10:691-700, 2004.、W02000/31048) (式 (XLIX) 参照)、



- 5 (3) (2E) -N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル) アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド

((2E)-N-[4-[(3-chloro-4-fluorophenyl) amino]-3-cyano-7-ethoxy-6-quinolinyl]-4-(dimethylamino)-2-butenamide) (以下、「pelitinib」ともいう。

- 10 W02003/50090) (式 (L) 参照)



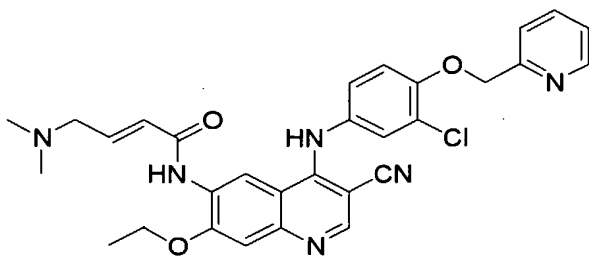
(4) [6-[4-[(4-エチルピペラジン-1-イル) メチル] フェニル]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-イル]-((R)-1-フェニルエチル)アミン (AEE-788) (式 (XXV) 参照)、

- 15 (5) (E) -N-{4-[3-クロロ-4-(2-ピリジニルメトキシ)アニリノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル}-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド

((E)-N-{4-[3-chloro-4-(2-pyridinylmethoxy)anilino]-3-cyano-7-ethoxy-6-quinolinyl}-4-(dimethylamino)-2-butenamide) (以下、「HKI-272」ともいう Cancer

- 20 Research., 64, 3958-3965, 2004.、Journal of Medicinal Chemistry., 48,

1107-1131, 2005.) (式 (LI) 参照)、



(LI)

などを挙げることができる。

5 本発明において、EGF レセプターキナーゼ阻害物質は、4-(3-エチニルフェニルアミノ)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)-キナゾリン(エルロチニブ：上記式(XLVII))であることが好ましい。

lapatinib、canertinib、pelitinib、AEE-788 および HKI-272 は、公知の方法で製造することができ、例えば、それぞれの文献に記載された方法で製造することができる。

10 また、本発明において、EGF レセプターキナーゼ阻害物質は、例えば、ARRY-334543 (Am. Assoc. Cancer Research, A3399, 2005.)、MP-412 (Am. Assoc. Cancer Research, A3394, 2005.、Am. Assoc. Cancer Research, A3405, 2005.)などを挙げることができる。ARRY-334543、MP-412 は、公知の方法で製造することができる。

15

(J) 抗 EGF レセプター抗体

20 本発明において、EGF 阻害物質は、例えば、抗 EGF レセプター抗体を挙げることができる。抗 EGF レセプター抗体は、EGF レセプターまたはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 EGF レセプター抗体は、EGF レセプターを認識し結合することで、EGF の活性、例えば、血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。抗 EGF レセプター抗体の作製は、後述の抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。抗 EGF レセプター抗体は、ポリクローナル抗体でも、モノクローナル抗体であってもよい。また、当該抗体のアイソ

タイプは特に限定されない。また、抗 EGF レセプター抗体は、抗体の断片または一本鎖抗体であってもよい（後述の抗 VEGF 抗体の記載を参照）。

本発明において、抗 EGF レセプター抗体は、好ましくはセツキシマブ (cetuximab) を挙げることができる。

5 セツキシマブは、特開 2002-114710 号公報 (JP2004-114710) または特開平 2-291295 号公報 (JP2-291295) に記載の方法により入手することができる。

また、セツキシマブは、Merck 社から Erbitux (登録商標) を購入することによって、入手することができる。

10 また、本発明において、抗 EGF レセプター抗体は、nimotuzumab を挙げることができる。nimotuzumab は、欧州特許第 2 0 3 1 2 6 号明細書 (EP203126) または米国特許第 5 8 9 1 9 9 6 号明細書 (US5891996) に記載の方法により入手することができる。

15 また、本発明において、抗 EGF レセプター抗体は、panitumumab (CAS 339177-26-3、Clinical Colorectal Cancer. 2005; 5(1):21-3.)、matuzumab (CAS 339186-68-4、Curr Opin Mol Ther. 2004; 6(1):96-103.)、IMC-11F8 (Am. Assoc. Cancer Research, A5353, 2005.)、MDX-447 (ASCO 18: 433, 1999) などを挙げることができる。

(K) 血管新生阻害物質の塩および溶媒和物

20 本発明において、血管新生阻害物質は、酸または塩基と薬理学的に許容される塩を形成する場合もある。本発明における上記血管新生阻害物質は、これらの薬理学的に許容される塩をも包含する。酸との塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩などの無機酸塩およびギ酸、酢酸、乳酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、クエン酸、酒石酸、ステアリン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸な
25 どの有機酸塩などを挙げることができる。また、塩基との塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、アルギニン、

リジンなどの有機塩基塩、アンモニウム塩などを挙げることができる。

また、本発明において、血管新生阻害物質は、これら化合物の溶媒和物および光学異性体が存在する場合には、それらの溶媒和物および光学異性体が含まれる。

溶媒和物は、例えば、水和物、非水和物などを挙げることができ、好ましくは水和物を挙げることができる。溶媒は、例えば、水、アルコール（例えば、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール）、ジメチルホルムアミドなどを挙げることができる。

さらに、本発明において、血管新生阻害物質は、結晶でも無結晶でもよく、また、結晶多形が存在する場合には、それらのいずれかの結晶形の単一物であっても混合物であってもよい。

また、本発明において、血管新生阻害物質は、生体内で酸化、還元、加水分解、抱合などの代謝を受ける血管新生阻害物質をも包含する。また、本発明において、血管新生阻害物質は、生体内で酸化、還元、加水分解などの代謝を受けて血管新生阻害物質を生成する化合物をも包含する。

(L) 抗 VEGF 抗体、抗 FGF 抗体、抗 PDGF 抗体、抗 EGF 抗体

本発明において、抗 VEGF 抗体は、VEGF またはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 VEGF 抗体は、VEGF を認識し結合することで、VEGF の血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。本発明において、抗 VEGF 抗体は、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体(scFv) (Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-83; The Pharmacology of Monoclonal Antibody, vol. 113, Rosenberg and Moore ed., Springer Verlag (1994) pp. 269-315)、ヒト化抗体、多特異性抗体 (LeDoussal et al. (1992) Int. J. Cancer Suppl. 7: 58-62; Paulus (1985) Behring Inst. Mitt. 78: 118-32; Millstein and Cuellar (1983) Nature 305: 537-9; Zimmermann (1986) Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 105: 176-260; Van Dijk et al. (1989) Int. J. Cancer 43: 944-9)、ヒト抗体、および Fab、Fab'、F(ab')₂、Fc、Fv などの抗体断片などがあげられ、好ましくはモノクローナル抗体があげられる。さらに、

抗 VEGF 抗体は、必要に応じ、ポリエチレングリコール (PEG) 等により修飾されていてもよい。その他、抗 VEGF 抗体は、 β -ガラクトシダーゼ、MBP、GST、GFP 等との融合タンパク質として製造されることができ、ELISA 法などにおいて二次抗体を用いずに検出できるようにしてもよい。また、抗 VEGF 抗体は、ビオチン等により抗体を標識することによりアビジン、ストレプトアビジン等を用いて抗体の回収を行い得るように改変されていてもよい。

抗 VEGF 抗体は、VEGF またはその部分断片、もしくはそれらを発現する細胞を感作抗原として常法に従い製造することができる (「Current Protocols in Molecular Biology」(John Wiley & Sons (1987) Section 11.4-11.13))。この場合、VEGF またはその部分断片は、Fc 領域、GST、MBP、GFP、AP などとの融合タンパク質であってもよい。

ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は、当業者に周知の方法で作製することができる (Antibodies: A Laboratory Manual, E. Harlow and D. Lane, ed., Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, NY, 1988))。

ポリクローナル抗体は、例えば、抗原をマウス、ウサギ、ラットなどの哺乳動物に投与し、該哺乳動物から血液を採取し、採取した血液から抗体を分離、精製することにより得ることができる。免疫感作の方法は当業者に公知であり、例えば抗原を 1 回以上投与することにより行うことができる。また、抗原 (VEGF またはその部分断片) は、適当な緩衝液、例えば、完全フロイントアジュバントまたは水酸化アルミニウム等の通常用いられるアジュバントを含有する適当な緩衝液に溶解して用いることができるが、投与経路や条件等に応じてアジュバントを使用しない場合もある。

最後の免疫感作から 1 ~ 2 ケ月後に当該哺乳動物から血液を採取して、該血液を、例えば、遠心分離、硫酸アンモニウムまたはポリエチレングリコールを用いた沈澱、各種クロマトグラフィー等の常法によって分離、精製することにより、ポリクローナル抗血清として、ポリクローナル抗体を得ることができる。

モノクローナル抗体を産生する方法としては、ハイブリドーマ法を挙げるこ

ができる。ハイブリドーマ法は、まず、ポリクローナル抗体の産生と同様に哺乳動物を免疫感作する。免疫後、適当な日数を経過した後に部分採血を行い、ELISA法などの公知方法で抗体価を測定することが好ましい。

- 次いで、感作の終了した免疫動物から脾臓を摘出し、B細胞を得る。次いで、B
- 5 細胞を常法に従いミエローマ細胞と融合させて抗体産生ハイブリドーマを作製することができる。用いられるミエローマ細胞は特に限定されず、公知のものを使用できる。細胞の融合方法は、センダイウイルス法、ポリエチレングリコール法、プロトプラスト法等、当該分野で公知の方法を任意に選択して用いることができる。得られたハイブリドーマは、常法に従い、HAT 培地（ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン含有培地）中で適当な期間培養し、ハイブリドーマ
- 10 の選択を行うことができる。次いで、目的とする抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングを行った後、当該ハイブリドーマのクローニングを行うことができる。

- スクリーニング法としては、ELISA 法やラジオイムノアッセイ法などの公知の抗体検出方法を用いることができ、また、クローニング法としては、当該分野で
- 15 公知の方法を用いることができ、例えば、限界希釈法およびFACS 法等を用いることができる。得られたハイブリドーマは、適当な培養液中で培養するか、あるいはハイブリドーマと適合性のある、例えばマウス腹腔内に投与することができる。こうして得られる培養液中または腹水中から、塩析、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、アフィニティークロマトグラフィー等により、所望のモノクロー
- 20 ーナル抗体を単離精製することができる。

本発明において、抗 VEGF 抗体は、好ましくはベバシズマブ（Bevacizumab）を挙げることができる。ベバシズマブは、ヒト抗 VEGF モノクローナル抗体であり、Genentech 社から Avastin（登録商標）として販売されているものである。

- ベバシズマブは、Genentech 社から Avastin を購入することによって、入手す
- 25 ることができる。

本発明において、抗 FGF 抗体は、FGF またはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 FGF 抗体は、FGF を認識し結合することで、FGF の血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。抗 FGF 抗体の作製は、前記抗 VEGF

抗体の製造方法と同様にして作製することができる。

本発明において、抗 PDGF 抗体は、PDGF またはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 PDGF 抗体は、PDGF を認識し結合することで、PDGF の血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。抗 PDGF 抗体の作製は、前

5 記抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。

本発明において、抗 EGF 抗体は、EGF またはその部分断片と親和性を有する抗体である。抗 EGF 抗体は、EGF を認識し結合することで、EGF の血管内皮細胞増殖活性を阻害する中和抗体であることが好ましい。抗 EGF 抗体の作製は、前記抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。

10

4. キット

本発明は、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法において使用するための、抗 α -SMA 抗体、抗デスミン抗体、抗コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 抗体、抗カルポニン抗体、抗カルデスモン抗体および抗 PDGF レセプター抗体からなる群から選択される少なくとも一つを含む、キットを提供する。抗体は、好ましくは抗 α -SMA 抗体である。抗体は、前記抗 VEGF 抗体の製造方法と同様にして作製することができる。キットに含まれる抗体は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の測定に用いることができる。本発明のキットは、上記抗体に加えて、一般の測定において慣用的な成分を含んでいてもよい。

15

20

また、本発明は、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法において使用するための、 α -SMA 遺伝子、デスミン遺伝子、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 遺伝子、カルポニン遺伝子、カルデスモン遺伝子および PDGF レセプター遺伝子からなる群から選択される少なくとも一つの遺伝子の転写産物である RNA の少なくとも一部に相補的なポリヌクレオチドを含む、キットを提供する。遺伝子は、好ましくはデスミン遺伝子である。当該キットの構成成分となるポリヌクレオチドは、例えば、in situ ハイブリダイゼーション、ノーザンブロット解析、DNA マイクロアレイ、RT-PCR、定量的 RT-PCR などに使用されるプライマーおよび／またはプローブであり、例えば、Primer Expression (Perkin-Elmer Applied

25

Biosystems) を用いて設計することができる。所望のポリヌクレオチドは、公知の方法により作製することができる。キットに含まれるポリヌクレオチドは、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の測定に用いることができる。本発明のキットは、上記ポリヌクレオチドに加えて、一般の測定において慣用的な成分を含んで

5 いてもよい。

上記遺伝子の塩基配列は、各種データベースに登録されており、例えば、以下の GenBank アクセッション番号により塩基配列情報を入手することができる。

α -SMA 遺伝子 : NM_001613

デスミン遺伝子 : NM_001927

10 コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 遺伝子 : NM_001897

カルポニン遺伝子 : NM_001299

カルデスモン遺伝子 : NM_033138

PDGF レセプター遺伝子 : NM_002609

RNA の少なくとも一部とは、塩基配列として少なくとも 15 塩基、好ましくは 15
15 ~50 塩基、より好ましくは 20~35 塩基、さらに好ましくは 20~30 塩基の配列を有するものであり、配列の長さは当業者が適宜設定することができる。

さらに、本発明のキットは、血管内皮細胞に特異的に発現するタンパク質に対する抗体および／または血管内皮細胞に特異的に発現する遺伝子の転写産物である RNA の少なくとも一部に相補的なポリヌクレオチドを含んでいてもよい。これ
20 らの抗体およびポリヌクレオチドは、腫瘍中の血管数（周皮細胞で覆われた血管数および周皮細胞で覆われていない血管数の合計）の測定に用いることができる。血管内細胞に特異的に発現するタンパク質および／または遺伝子は、例えば、CD31、wVF、CD34、CD105、CXCR4、CD146、CD133、KDR（VEGF2 型受容体）および KIT などがあげられる。

25

以下に、具体的な例をもって本発明を示すが、本発明はこれに限られるものではない。

実施例 1：ヒト癌細胞株皮下移植モデル (in vivo) における血管新生阻害物質の抗腫瘍効果

ヒト癌細胞株 A375 (大日本製薬より購入)、SEKI、HMV-1 (以上、独立法人医薬基盤研究所 JCRB cell bank より購入)、FEM (The Norwegian Radiumhospital Research Foundation, Dr. Fodstad より譲渡)、LOX (AntiCancer より購入)、AZ-521 (財団法人ヒューマンサイエンス振興財団より購入)、MDA-MB-468、DLD-1、HCT116、SW620、PC-3、DU145、AsPC-1、H526、MDA-MB-231、SK-Mel-2、Lovo、A431 (以上、ATCC より購入) を 5%炭酸ガスインキュベーター内において RPMI1640 (10% FBS 含) で約 80%コンフルレントとなるまで培養した。培養後、常法に従いトリプシン-EDTA により、各細胞を回収した。各細胞をリン酸緩衝液で懸濁し、 1×10^8 cells/mL または 5×10^7 cells/mL 懸濁液を調製した。そして、細胞懸濁液を 0.1 mL ずつヌードマウス体側皮下に移植した。移植後、腫瘍体積が約 100-200mm³ になった時点から、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (100 mg/kg、1 日 2 回、1 週間、経口投与) の投与を開始した。なお、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (メタンスルホン酸塩) は、国際公開第 02/32872 号パンフレット (W002/32872) および国際公開第 2005/063713 号パンフレット (W02005/063713) の記載に基づいて製造した。腫瘍長径および短径をデジマチックキャリパ (Mitsutoyo) で測定し、以下の式で腫瘍体積および $\Delta T/C$ を算出した。

$$\text{腫瘍体積 (TV)} = \text{腫瘍長径 (mm)} \times \text{腫瘍短径}^2 \text{ (mm}^2\text{)} / 2$$

$$\Delta T/C = (\text{化合物投与群の day8 の腫瘍体積} - \text{化合物投与群の day1 の腫瘍体積}) / (\text{対照群の day8 の腫瘍体積} - \text{対照群の day1 の腫瘍体積}) \times 100$$

式中、day1 は、投与開始日を示し、day8 は、投与開始日から 8 日目を示す。

4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの抗腫瘍効果の強さにより、各癌細胞株をそれぞれ縮小株、休止株、増殖株に分類した。なお、分類は、 Δ

T/C<-30%の癌細胞株を縮小株、 $-30\% < \Delta T/C < 10\%$ の癌細胞株を休止株、 $10\% < \Delta T/C$ の癌細胞株を増殖株とした。

実施例 2：ヒト癌細胞株皮下移植モデルの腫瘍組織切片の作製および染色方法ならびに血管新生阻害物質の抗腫瘍効果と血管数に対する周皮細胞で覆われた血管数の比率との相関

ヒト癌細胞株 A375（大日本製薬より購入）、SEKI、HMV-1（以上、独立法人医薬基盤研究所 JCRB cell bank より購入）、FEM（The Norwegian Radiumhospital Research Foundation. Dr.Fodstad より譲渡）、LOX（AntiCancer より購入）、AZ-521（財団法人ヒューマンサイエンス振興財団より購入）、MDA-MB-468、DLD-1、HCT116、SW620、PC-3、DU145、AsPC-1、H526、MDA-MB-231、SK-Mel-2、Lovo、A431（以上、ATCC より購入）を 5%炭酸ガスインキュベーター内において RPMI1640（10% FBS 含）で約 80%コンフルレントとなるまで培養した。培養後、常法に従いトリプシン-EDTA により、各細胞を回収した。各細胞をリン酸緩衝液で懸濁し、 1×10^8 cells/mL または 5×10^7 cells/mL 懸濁液を調製した。そして、細胞懸濁液を 0.1 mL ずつヌードマウス体側皮下に移植した。移植後、腫瘍体積が約 100-200mm³ になった時点で、マウスを CO₂ にて致死せしめ、移植ヒト腫瘍を外科手術により摘出した。腫瘍組織の周辺部より約 5 mm 内側をナイフで切断し、当該腫瘍組織を OCT コンパウンドで包埋した。その後、ドライアイスで凍結し、-80℃にて凍結組織を作製した。当該腫瘍組織について、厚さ 8 μ m の切片を作製し、スライドガラスに貼り付けた後、流水洗浄を行い、冷アセトン中に 4℃で 10 分間静置した。0.1%Tween20 含有 0.01M リン酸緩衝液（以下、洗浄用 PBS）で 3 回洗浄を行い、DAKO ビオチンブロッキングキットのアビジンブロッキング溶液にて室温で 10 分間反応させた。洗浄用 PBS で 3 回洗浄後、DAKO ビオチンブロッキングキットのビオチンブロッキング溶液にて室温で 10 分間反応させた。さらに同様に洗浄後、VECTOR STAIN ABC ペルオキシダーゼ ラット IgG キット内の正常血清にて室温で 20 分間反応させた。溶液を除去後、1%ウシ胎児血清含有 0.1M リン酸緩衝液にて 600 倍希釈した 1 次抗体である抗 CD31 抗体（クローン名：MEC13.3、ラット IgG、PharMingen,

BD Biosciences) を 4℃で一晩反応させた。洗浄後、VECTOR STAIN ABC ペルオキシダーゼ ラット IgG キット内のビオチン標識した 2 次抗体を室温で 30 分間反応させ、同様に洗浄を行った後、VECTOR STAIN ABC ペルオキシダーゼ ラット IgG キット内のアビジン試薬(試薬 A と B の混合液)でさらに室温で 30 分間反応させた。

- 5 0.01M リン酸緩衝液にて 3 回洗浄後、DAB にて発色させ、CD31 の染色を行った。

次に、サンプルを流水にて水洗後、トリスバッファーにてさらに 3 回洗浄を行った。トリスバッファーにて 100 倍希釈したアルカリフォスファターゼ標識抗 α -SMA 抗体 (クローン名: 1A4、マウス IgG、SIGMA-ALDRICH) を室温、1 時間反応させた。トリスバッファーにて 3 回洗浄後、DAKO LSAB キット内のフクシン溶液

- 10 (溶液 3 および 4 をそれぞれ 2 滴ずつ混合した後、1 分間攪拌後、溶液 5 で 2 mL にボリュームアップした溶液) にて発色させ、 α -SMA の染色を行った。

染色サンプルを顕微鏡観察下、CCD カメラ HYPER SCOPE (KEYENCE) にて血管数およびペリサイトで覆われた血管数を 1 サンプルあたり大よそ 5 ヶ所測定し、その平均を単位面積辺りの血管数またはペリサイトで覆われた血管数として換算した。

- 15 また、その血管全体に占めるペリサイトで覆われた血管の割合をそれぞれの癌細胞株で算出し、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの抗腫瘍効果との比較を行った。Dunnett 型多重比較検定にて統計解析を行った。

- 20 これらの結果から、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの抗腫瘍効果は、腫瘍組織中における周皮細胞で覆われた血管数と関連することが明らかになった(表 1 および図 1)。よって、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測することが可能となった。そのため、本発明に係る方法は、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、より抗腫瘍効果を期待できる患者を選択することができ、患者の QOL に貢献することが可能となった。
- 25

表 1

細胞株	癌種	$\Delta T/C$	分類	周皮細胞で覆われた血管の割合 (%)
MDA-MB-468	乳癌	-53%	縮小株	22.7
MDA-MB-231	乳癌	-33%	縮小株	6
DU145	前立腺癌	-60%	縮小株	11
AZ-521	胃癌	-57%	縮小株	14.6
Lovo	大腸癌	-11%	休止株	11
SK-Mel-2	メラノーマ	-2.5%	休止株	10
AsPC-1	膵癌	-8%	休止株	8
A431	類表皮癌	-8%	休止株	10
SW620	大腸癌	22%	増殖株	20.6
DLD-1	大腸癌	52%	増殖株	29.5
HCT116	大腸癌	17%	増殖株	31.6
A375	メラノーマ	26%	増殖株	20.9
LOX	メラノーマ	42%	増殖株	30
HMV-1	メラノーマ	19%	増殖株	24.7
SEKI	メラノーマ	110%	増殖株	18.1
FEM	メラノーマ	55%	増殖株	36
PC-3	前立腺癌	54%	増殖株	16
H526	小細胞肺癌	22%	増殖株	81

表 1 は、4-（3-クロロ-4-（シクロプロピルアミノカルボニル）アミノフェノキシ）-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドのヒト癌細胞株移植マウスモデルにおける抗腫瘍効果、分類および周皮細胞で覆われた血管の割合 (%) を示す。

実施例 3：ヒト癌細胞株皮下移植モデル (in vivo) における血管新生阻害物質の抗腫瘍効果

10 ヒト癌細胞株 AsPC-1、H526（いずれも ATCC より購入）を 5%炭酸ガスインキュベーター内において RPMI1640（10% FBS 含）で約 80%コンフルレントとなるまで培養した。培養後、常法に従いトリプシン-EDTA により、各細胞を回収した。各細胞をリン酸緩衝液で懸濁し、 5×10^7 cells/mL 懸濁液を調製した。そして、細胞懸濁液を 0.1 mL ずつヌードマウス体側皮下に移植した。移植後、腫瘍体積が約

15 $50-200\text{mm}^3$ になった時点から、5-（5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イリデンメチル）-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック アシッド（2-ジエチルアミノエチル）アミド（100mg/kg、1 日 1 回、1 週間、経口投与）の投与を開始した。なお、5-（5-フルオロ-

2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イリデンメチル)-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック アシッド (2-ジエチルアミノエチル) アミドは、国際公開第01/060814号パンフレット (W001/060814) の記載に基づいて製造した。腫瘍長径および短径をデジマチック

5 キャリパ (Mitsutoyo) で測定し、以下の式で腫瘍体積、比腫瘍体積を算出した。

$$\text{腫瘍体積 (TV)} = \text{腫瘍長径 (mm)} \times \text{腫瘍短径}^2 (\text{mm}^2) / 2$$

$$\text{比腫瘍体積 (RTV)} = \text{測定日の腫瘍体積} / \text{投与開始日の腫瘍体積}$$

その結果、(5-(5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イリデンメチル)-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック アシッド (2-ジエチルアミノエチル) アミド) (化合物2) 投与群では、
 10 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (化合物1) 投与群と同様に、腫瘍の増殖が、実施例1で休止株に分類された AsPC-1 では休止し、また、増殖株に分類された H526 では遅延した (図2)。すなわち、化合物2では、化合物1と同様の抗腫瘍効果の程度を示すことが示された。したがって、化合物1のみならず
 15 他の血管新生阻害物質においても周皮細胞で覆われた血管数を指標として、抗腫瘍効果を予測できることが明らかとなった (図2)。よって、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を
 20 予測することが可能となった。そのため、本発明に係る方法は、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、より抗腫瘍効果を期待できる患者を選択することができ、患者の QOL に貢献することが可能となった。

25 実施例4：ヒト癌細胞株皮下移植モデルにおける血管新生阻害物質の抗腫瘍効果と周皮細胞で覆われた血管数の比率との関連 (定量的 RT-PCR)

1. ヒト癌細胞株皮下移植モデルにおける腫瘍組織中の全 RNA の精製

ヒト癌細胞株 MDA-MB-468、DLD-1、HCT116、SW620、PC-3、DU145、AsPC-1、H526、

MDA-MB-231、MDA-MB-435、SK-OV-3、Lovo、7860、22Rv(以上、ATCC より購入)、HMV-1 (独立法人医薬基盤研究所 JCRB cell bank より購入)、Colo320DM、A549、A375 (大日本製薬より購入)、FEM (The Norwegian Radiumhospital Research Foundation. Dr.Fodstad より譲渡)、LOX (AntiCancer より購入) を 5%炭酸ガスインキュベーター内において RPMI1640 (10% FBS 含) で約 80%コンフルレントとなるまで培養した。培養後、常法に従いトリプシン-EDTA により、各細胞を回収した。各細胞をリン酸緩衝液で懸濁し、 1×10^8 cells/mL または 5×10^7 cells/mL 懸濁液を調製した。そして、細胞懸濁液を 0.1 mL ずつヌードマウス体側皮下に移植した。移植後、腫瘍体積が約 $100\text{--}200\text{mm}^3$ になった時点で、マウスを CO_2 にて致死せしめ、移植ヒト腫瘍を外科手術により摘出した。腫瘍組織を 2 つに分け、重量を測定し、一方の腫瘍について、腫瘍重量 50 mg に対して TRIZOL 試薬 (インビトロジェン社製) 1 mL を添加し、腫瘍組織をホモジナイズし、 -20°C にて保存した。

次に、TRIZOL 試薬 1 mL に対して 0.2 mL の割合でクロロホルム (純正化学社より購入) を添加した。この溶液を 15 秒間激しく振盪、攪拌し、室温で 2 ~ 3 分間放置後遠心を行った ($12,000 \times g$ 、10 分間、 4°C)。遠心後水層を新しいチューブに移し、使用した TRIZOL 試薬 1 mL に対して 0.2 mL の割合でイソプロピルアルコール (和光純薬社より購入) を加え、室温で 10 分間放置後遠心を行った ($12,000 \times g$ 、10 分間、 4°C)。得られた沈殿を 75%エタノール (和光純薬社より購入) にて洗浄した後風乾した。このようにして得られた全 RNA を以降の測定に供した。

2. RNA の定量

定量的 RT-PCR は、遺伝子特異的プローブ (TaqMan Gene Expression Assays mixture (ASSAYS-ON-DEMAND)、アプライドバイオシステムズ社より購入) および ABI Prism 7900 Sequence Detection System (Perkin-Elmer Applied Biosystems 社より購入) を用いて、以下のように行った。

操作は、逆転写反応および PCR 反応の 2 段階で行った。最初の段階である逆転写反応は、得られた $100\text{ng}/\mu\text{L}$ の RNA $3\mu\text{L}$ に dNTP $6\mu\text{L}$ 、oligo d(T)₁₆ プライマ

— 1.5 μ L、RNase Inhibitor 0.6 μ L、Multiscribe Reverse Transcriptase 0.75 μ L、25mM $MgCl_2$ 6.6 μ L (Perkin-Elmer Applied Biosystems 社より購入) および DEPC water 6 μ L を加え、25°C にて 10 分間保温後、48°C にて 30 分間加熱することにより行った。反応液を 95°C 5 分間加熱することにより反応を停止させ、PCR

5 用 cDNA 液を得た。

得られた cDNA を第 2 段階の PCR 反応に供した。PCR 反応は、DEPC water で 5 倍希釈した PCR 用 cDNA 液 5 μ L、TaqMan Universal PCR Master Mix 6.25 μ L、200 nM TaqMan Gene Expression Assays プローブ 0.625 μ L、 H_2O 0.625 μ L の反応系で行った。反応条件は、50°C 2 分間および 95°C 10 分間の反応を行い、次

10

いで、95 °C 20 秒間、55°C 20 秒間、72°C 30 秒間を 40 サイクル行った。プローブおよびプライマーは、デスミン測定用には TaqMan Gene Expression Assays mixture (ASSAYS-ON-DEMAND、Mm00802455_s1、アプライドバイオシステムズ社より購入) を用い、 β -actin 測定用には TaqMan Gene Expression Assays mixture (ASSAYS-ON-DEMAND、Mm00607939_s1、アプライドバイオシステムズ社より購入)

15

を用いた。

3. データ解析方法

各遺伝子の定量解析を行なうため、検量線の作成は、SK-OV-3 の mRNA サンプルを用いて行なった。各癌細胞株での遺伝子発現量は、検量線から Ct (threshold

20

cycle 値の略であり、PCR 産物がある一定の濃度に達するのに必要な PCR のサイクル数である) を算出した。各癌細胞株におけるデスミンの発現量を β -actin 発現量で補正した値を各癌細胞株におけるデスミンの発現量比とし、比較解析に用いた。各細胞株の分類は、実施例 1 にて行ったものを用いた。なお、縮小株および休止株をまとめた群を感受性株として分類した。

25

感受性株と増殖株との比較を permutation test により行い、 $P < 0.05$ のものを有意差ありと判断した。

その結果、デスミンは、感受性株 (2.5) に比べて増殖株 (5.6) において有意に発現量が多いことが明らかとなった (図 3)。

以上の結果から、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、デスミンなどの周皮細胞のマーカーの発現を指標として腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより予測することが可能となった。

5 産業上の利用可能性

本発明により、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法が提供された。

より詳細には、血管新生阻害物質の抗腫瘍効果は、腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定し、周皮細胞で覆われた血管数を指標とすることにより予測することが可能となった。

- 10 本発明に係る方法は、患者に血管新生阻害物質を投与することなく、抗腫瘍効果を予測することが可能となるため、より抗腫瘍効果を期待できる患者を選択することができ、患者の QOL に貢献することが可能となった。

請求の範囲

1. 血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法であって、
腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程と、
5 周皮細胞で覆われた血管数を指標として、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程と、
を含む、前記方法。
2. 腫瘍中の血管数を測定する工程と、
腫瘍中の血管数に対する腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の比率を指標
10 として、癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程と、
をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。
3. 血管新生阻害物質の抗腫瘍効果を予測する方法であって、
腫瘍中の血管数および腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数を測定する工程
15 と、
腫瘍中の血管数に対する腫瘍中の周皮細胞で覆われた血管数の比率を指標
として、当該癌患者が血管新生阻害物質に対して高感受性であるか否かを判断する工程と、
を含む、前記方法。
- 20 4. 腫瘍が癌患者から採取されたものである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。
5. 周皮細胞で覆われた血管数の測定が、 α -SMA、デスミン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4、カルポニン、カルデスモンおよび PDGF レセプター
からなる群から選択される少なくとも一つの発現を指標に行うものである、
25 請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。
6. 周皮細胞で覆われた血管数の測定が、 α -SMA および／またはデスミンの発現
を指標に行うものである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。
7. 周皮細胞で覆われた血管数の測定が、免疫化学的方法により行うものである、

請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

8. 周皮細胞で覆われた血管数の測定が、in situ ハイブリダイゼーションにより行うものである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

9. 周皮細胞で覆われた血管数の測定が、定量的 RT-PCR により行うものである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

10. 腫瘍中の血管数の測定が、CD31、wVF、CD34、CD105、CXCR4、CD146、CD133、KDR および KIT からなる群から選択される少なくとも一つの発現を指標に行うものである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

11. 腫瘍中の血管数の測定が、CD31 の発現を指標に行うものである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

12. 腫瘍中の血管数の測定が、免疫化学的方法により行うものである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

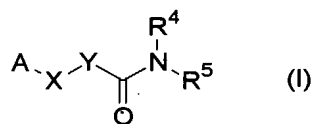
13. 腫瘍中の血管数の測定が、in situ ハイブリダイゼーションにより行うものである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

14. 腫瘍中の血管数の測定が、定量的 RT-PCR により行うものである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

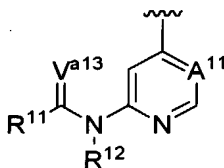
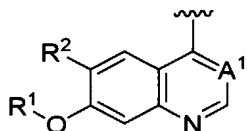
15. 血管新生阻害物質が、VEGF レセプターキナーゼ阻害物質である、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の方法。

16. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

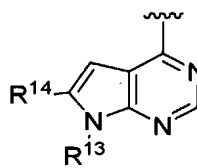
20 一般式 (I)



[式 (I) 中、A は、式



または



(式中、R¹は、式-V¹-V²-V³ (式中、V¹は置換基を有していてもよい

25 C₁₋₆アルキレン基を意味する；V²は、単結合、酸素原子、硫黄原子、カルボ

ニル基、スルフィニル基、スルホニル基、式 $-\text{CONR}^6-$ で表される基、式 $-\text{SO}_2\text{NR}^6-$ で表される基、式 $-\text{NR}^6\text{SO}_2-$ で表される基、式 $-\text{NR}^6\text{CO}-$ で表される基または式 $-\text{NR}^6-$ で表される基を意味する（式中、 R^6 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する。）； V^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する。）で表される基を意味する；

R^2 は、シアノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、カルボキシ基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-\text{CONV}^{a11}\text{V}^{a12}$ （式中、 V^{a11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する； V^{a12} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。）で表される基を意味する；

A^1 は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する；

R^{11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有

していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基または置換基を有していてもよいモノ- C_{1-6} アルキルアミノ基を意味する；

R^{12} は、水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する；

V^{a13} は、酸素原子または硫黄原子を意味する；

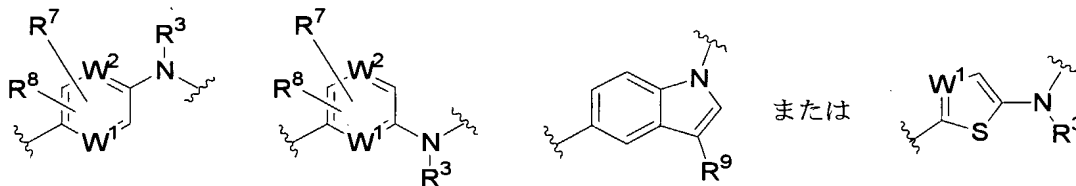
A^{11} は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する；

10 R^{13} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する；

R^{14} は、式 $-V^{a14}-V^{a15}$ （式中、 V^{a14} は、単結合またはカルボニル基を意味する； V^{a15} は、水素原子、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、アミノ基、置換基を有していてもよいモノ- C_{1-6} アルキルアミノ基、置換基を有していてもよいジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、ホルミル基、カルボキシ基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する。）で表される基を意味する。）で表される基を意味する；

15 X は、酸素原子または硫黄原子を意味する；

20 Y は、式



25 （式中、 R^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6}

アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する；

- 5 R^7 および R^8 は、それぞれ独立して水素原子、ハロゲン原子、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキルチオ基、ホルミル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-CONV^{d1}V^{d2}$ (式中、 V^{d1} および V^{d2} は、
- 10 それぞれ独立して水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する。) で表される基を意味する；

R^9 は、水素原子、ハロゲン原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する；

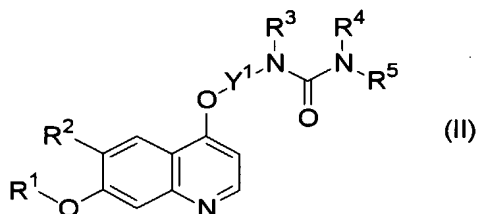
- 15 W^1 および W^2 は、それぞれ独立して置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する。) で表される基を意味する；

- R^4 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する；
- 20

- R^5 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する]
- 25

で表される化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項15に記載の方法。

17. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、
一般式 (II)



5 [式 (II) 中、 R^1 は、式 $-V^1-V^2-V^3$ (式中、 V^1 は、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキレン基を意味する； V^2 は、単結合、酸素原子、硫黄原子、カルボニル基、スルフィニル基、スルホニル基、式 $-CONR^6-$ で表される基、式 $-SO_2NR^6-$ で表される基、式 $-NR^6SO_2-$ で表される基、式 $-NR^6CO-$ で表される基または式 $-NR^6-$ で表される基を意味する (式中、 R^6 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基を意味する。))； V^3 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する。)で表される基を意味する；

15 R^2 は、シアノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、カルボキシ基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-CONV^{a11}V^{a12}$ (式中、 V^{a11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する； V^{a12} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、

置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。) で表される基を意味する；

Y^1 は、式



(式中、 R^7 および R^8 は、それぞれ独立して水素原子、ハロゲン原子、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキルチオ基、ホルミル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基または式 $-CONV^{d1}V^{d2}$ (式中、 V^{d1} および V^{d2} は、それぞれ独立して水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する。) で表される基を意味する；

W^1 および W^2 は、それぞれ独立して置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する。) で表される基を意味する；

R^3 および R^4 は、それぞれ独立して水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する；

R^5 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有してい

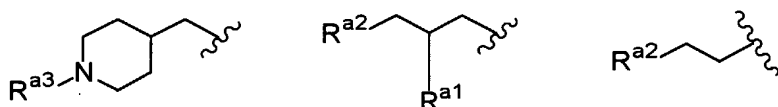
てもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する]

で表される化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶

5 媒和物である、請求項15に記載の方法。

18. R^1 が C_{1-6} アルキル基(ただし、 R^1 は C_{1-6} アルキル基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、 C_{1-6} アルコキシ基、アミノ基、モノ- C_{1-6} アルキルアミノ基およびジ- C_{1-6} アルキルアミノ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの置換基を有していてもよい)である、請求項17
10 に記載の方法。

19. R^1 がメチル基または式



(式中、 R^{a3} はメチル基を意味する； R^{a1} は水素原子または水酸基を意味する； R^{a2} は、メトキシ基、エトキシ基、1-ピロリジニル基、1-ピペリジニル基、4-モルホリニル基、ジメチルアミノ基またはジエチルアミノ基を意味する。)のいずれかで表される基である、請求項17に記載の方法。

20. R^1 がメチル基または2-メトキシエチル基である、請求項17に記載の方法。

21. R^2 がシアノ基または式 $-CONV^{a11}V^{a12}$ (式中、 V^{a11} は、水素原子、
置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基または置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する； V^{a12} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換
25

基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基、水酸基、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルコキシ基または置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。)で表される

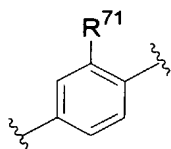
5 基である、請求項17に記載の方法。

22. R^2 がシアノ基または式 $-CONHV^{a16}$ (式中、 V^{a16} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基または C_{3-8} シクロアルコキシ基を意味する。ただし、 V^{a16} は、ハロゲン原子、シアノ基、水酸基および C_{1-6} アルコキシ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの置換基を有していてもよい。)で表される基である、請求項17に記載の方法。

23. R^2 が式 $-CONHV^{a17}$ (式中、 V^{a17} は、水素原子、 C_{1-6} アルキル基または C_{1-6} アルコキシ基を意味する。)で表される基である、請求項17に記載の方法。

15 24. R^2 が式 $-CONHV^{a18}$ (式中、 V^{a18} は、水素原子、メチル基またはメトキシ基を意味する。)で表される基である、請求項17に記載の方法。

25. Y^1 が式



(式中、 R^{71} は、水素原子またはハロゲン原子を意味する。)で表される基である、請求項17に記載の方法。

26. R^3 および R^4 が水素原子である、請求項17に記載の方法。

27. R^5 が水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基または C_{6-10} アリール基 (ただし、 R^5 は、ハロゲン原子およびメタンスルホニル基からなる群から選ばれる少なくとも一つの置換基を有していてもよい) である、請求項17に記載の方法。

28. R^5 がメチル基、エチル基またはシクロプロピル基である、請求項17に

記載の方法。

29. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

N- (4- (6-シアノ-7- (2-メトキシエトキシ) -4-キノリル) オキシ-2-フルオロフェニル) -N' - (4-フルオロフェニル) ウレア、

5 N- (2-クロロ-4- ((6-シアノ-7- ((1-メチル-4-ピペリジル) メトキシ) -4-キノリル) オキシ) フェニル) -N' -シクロプロピルウレア、

N- (4- ((6-シアノ-7- (((2R) -3- (ジエチルアミノ) -2-ヒドロキシプロピル) オキシ) -4-キノリル) オキシ) フェニル) -N' - (4-フルオロフェニル) ウレア、

10 N- (4- ((6-シアノ-7- (((2R) -2-ヒドロキシ-3- (1-ピロリジノ) プロピル) オキシ) -4-キノリル) オキシ) フェニル) -N' - (4-フルオロフェニル) ウレア、

4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

15 4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7- (2-メトキシエトキシ) -6-キノリンカルボキサミド、

N6-シクロプロピル-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

20 N6- (2-メトキシエチル) -4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N6- (2-フルオロエチル) -4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N6-メチル-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

ル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-エチル- 4- (3-クロロ- 4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-フルオロ- 4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7- (2-メトキシエトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7- (2-ヒドロキシエトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7- ((2S) - 2, 3-ジヒドロキシプロピル) オキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (メチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メトキシ- 4- (3-クロロ- 4- (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7- (2-エトキシエトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

4- (4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノフェノキシ) - 7- (2-メトキシエトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

N- (2-フルオロ- 4- ((6-カルバモイル- 7-メトキシ- 4-キノリル) オキシ) フェニル) - N' -シクロプロピルウレア、

N 6- (2-ヒドロキシエチル) - 4- (3-クロロ- 4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (1-プロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ- 6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ- 4- (cis- 2-フルオロ-シクロプロピルアミノカル

ボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-(((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-(2-メトキシエトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

5 N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-(((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-(2-(4-モルホリノ) エトキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

10 4-(3-クロロ-4-(2-フルオロエチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

N 6-((2R) テトラヒドロ-2-フラニルメチル) - 4-(3-クロロ-4-((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

15 4-(3-フルオロ-4-(エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) - 7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4-(3-クロロ-4-(((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-((2R) - 2-ヒドロキシ-3-(1-ピロリジノ) プロポキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

20 N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-((2R) - 3-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシプロポキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-(((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-((2R) - 3-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシプロポキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

25 N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7-((2R) - 2-ヒドロキシ-3-(1-ピロリジノ) プロポキシ) - 6-キノリンカルボキサミド、

N 6-メチル-4-(3-クロロ-4-(((エチルアミノ) カルボニル) アミ

ノ) フェノキシ) - 7 - ((2 R) - 2 - ヒドロキシ - 3 - (1 - ピロリジノ) プロポキシ) - 6 - キノリンカルボキサミド、

N 6 - メチル - 4 - (3 - クロロ - 4 - (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - ((1 - メチル - 4 - ピペリジル) メトキシ) - 6 - キノ

5 リンカルボキサミド、

N 6 - メチル - 4 - (3 - クロロ - 4 - (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - ((1 - メチル - 4 - ピペリジル) メトキシ) - 6 - キノリンカルボキサミド、

10 N - (4 - (6 - シアノ - 7 - (2 - メトキシエトキシ) - 4 - キノリル) オキシ - 2 - フルオロフェニル) - N' - シクロプロピルウレア、

N - (4 - (6 - シアノ - 7 - (3 - (4 - モルホリノ) プロポキシ) - 4 - キノリル) オキシフェニル) - N' - (3 - (メチルスルホニル) フェニル) ウレア、

15 4 - (4 - ((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

4 - (3 - フルオロ - 4 - ((2 - フルオロエチルアミノ) カルボニル) アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

20 N 6 - (2 - エトキシエチル) - 4 - (3 - クロロ - 4 - (((メチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミド、

4 - (4 - (3 - エチルウレイド) - 3 - フルオロフェノキシ) - 7 - メトキシキノリン - 6 - カルボキシリック アシッド (2 - シアノエチル) アミドおよび

25 N - (4 - (6 - (2 - シアノエチル) カルバモイル - 7 - メトキシ - 4 - キノリル) オキシ - 2 - フルオロフェニル) - N' - シクロプロピルウレア

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項 15 に記載の方法。

30. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ-4- (エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

5 N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- (((シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

4- (3-クロロ-4- (メチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

および

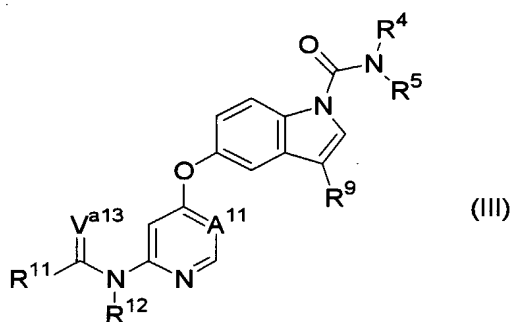
10 N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- (((エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項15に記載の方法。

31. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項15に記載の方法。

32. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドのメタンサルホン酸塩である、請求項15に記載の方法。

33. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、
一般式 (III)



[式 (III) 中、 R^{11} は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基または置換基を有していてもよいモノ- C_{1-6} アルキルアミノ基を意味する；

R^{12} は、水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する；

10 V^{a13} は、酸素原子または硫黄原子を意味する；

A^{11} は、置換基を有していてもよい炭素原子または窒素原子を意味する；

R^4 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-7} アシル基または置換基を有していてもよい C_{2-7} アルコキシカルボニル基を意味する；

15 R^5 は、水素原子、置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルケニル基、置換基を有していてもよい C_{2-6} アルキニル基、置換基を有していてもよい C_{3-8} シクロアルキル基、置換基を有していてもよい C_{6-10} アリール基、置換基を有していてもよい5～10員ヘテロアリール基、置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基を意味する；

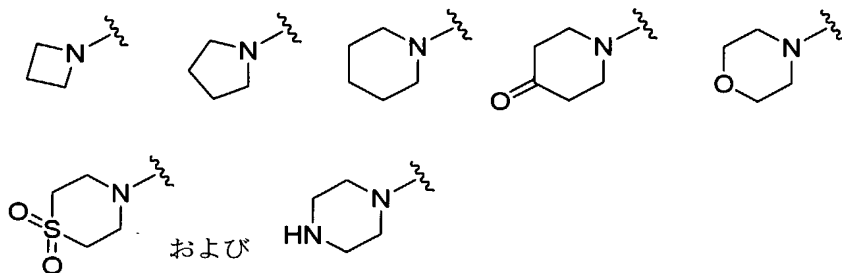
R^9 は、水素原子、ハロゲン原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する]

25 で表される化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項15に記載の方法。

34. R^{11} が置換基を有していてもよい3～10員非芳香族ヘテロ環式基または置換基を有していてもよいモノ- C_{1-6} アルキルアミノ基である、請求項33

に記載の方法。

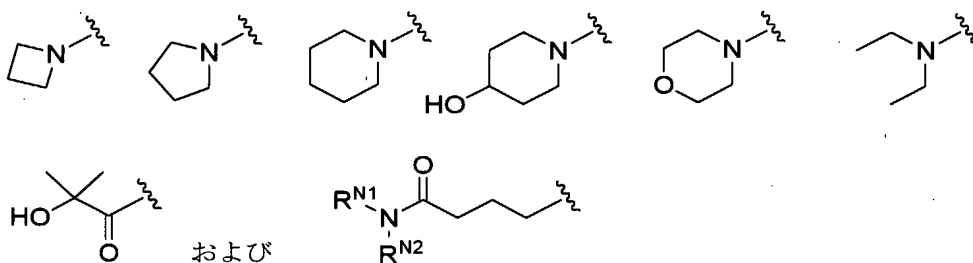
35. R^{11} が以下の置換基群から選ばれる少なくとも一つの置換基を有していてもよい式



5 で表される基からなる群から選ばれるいずれか1の基である、請求項33に記載の方法。

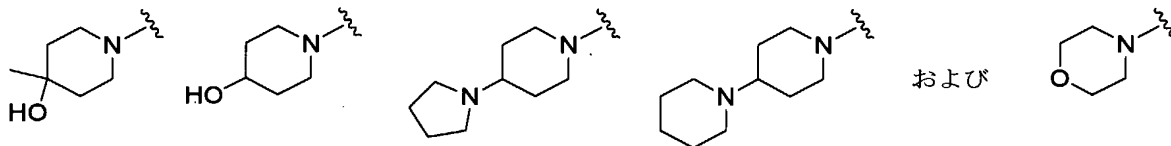
[置換基群]

水酸基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{3-8} シクロアルキル基、式



10 (式中、 R^{N1} および R^{N2} はそれぞれ独立して水素原子または置換基を有していてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する。) で表される基

36. R^{11} が式



15 で表される基からなる群から選ばれるいずれか1の基である、請求項33に記載の方法。

37. R^{12} が水素原子である、請求項33に記載の方法。

38. V^{a13} が酸素原子である、請求項33に記載の方法。

39. A^{11} が炭素原子である、請求項33に記載の方法。

40. R^4 が水素原子である、請求項33に記載の方法。

41. R^5 が C_{1-6} アルキル基または C_{3-8} シクロアルキル基である、請求項33に記載の方法。

42. R^5 がメチル基である、請求項33に記載の方法。

5 43. R^9 が水素原子である、請求項33に記載の方法。

44. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

5- (2- (((4-ヒドロキシ-4-メチルピペリジン-1-イル) カルボニル) アミノ) ピリジン-4-イルオキシ) -1H-インドール-1-カルボン酸メチルアミド、

10 N1-メチル-5- (2- (((4-ヒドロキシピペリジノ) カルボニル) アミノ-4-ピリジル) オキシ-1H-1-インドールカルボキサミド、

N1-メチル-5- (2- (((4- (ピロリジン-1-イル) ピペリジン-1-イル) カルボニル) アミノ) ピリジン-4-イルオキシ) -1H-1-インドールカルボキサミド、

15 N1-メチル-5- (2- (((4- (ピペリジン-1-イル) ピペリジン-1-イル) カルボニル) アミノ) ピリジン-4-イルオキシ) -1H-1-インドールカルボキサミド

および

20 N4- (4- (1- (メチルアミノ) カルボニル-1H-5-インドリル) オキシ-2-ピリジル) -4-モルホリンカルボキサミド

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項15に記載の方法。

45. VEGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

25 (1) N- (4-ブロモ-2-フルオロフェニル) -6-メトキシ-7- [(1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル) エトキシ] キナゾリン-4-アミン

(2) N- (4-ブロモ-2-フルオロフェニル) -6-メトキシ-7- [(1-メチルピペリジン-4-イル) メトキシ] キナゾリン-4-アミン、

(3) 3-[(2, 4-ジメチルピロール-5-イル)メチレン]-2-インドリ
ノン、

(4) (Z)-3-[(2, 4-ジメチル-5-(2-オキソ-1, 2-ジヒドロイ
ンドール-3-イリデンメチル)-1H-ピロール-3-イル)-プロピオニッ

5 ク アシッド、

(5) 5-(5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イ
リデンメチル)-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック ア
シッド (2-ジェチルアミノエチル) アミド、

(6) N, N-ジメチルグリシン 3-{5, 6, 7, 13-テトラヒドロ-9-
10 [(1-メチルエトキシ)メチル]-5-オキソ-12H-インデノ(2, 1-a)
ピロロ(3, 4-c)カルバゾール-12-イル}プロピルエステル、

(7) 3-(4-ブロモ-2, 6-ジフルオロベンジルオキシ)-5-[3-
(4-ピロリジン-1-イル-ブチル)-ウレイド]-イソチアゾール-4-カ
ルボキシリック アシッド アミド、

15 (8) N-{2-クロロ-4-[(6, 7-ジメトキシ-4-キナゾリニル)オキ
シ]フェニル}-N'-プロピルウレア、

(9) 1-(4-クロロアニリノ)-4-(4-ピリジルメチル)フタラジン、

(10) N-{2-クロロ-4-[(6, 7-ジメトキシ-4-キノリル)オキシ]
フェニル}-N'-(5-メチル-3-イソキサゾリル)ウレア、

20 (11) 4-[(4-フルオロ-2-メチルインドール-5-イル)オキシ]-6
-メトキシ-7-[3-(ピロリジン-1-イル)プロポキシ]キナゾリン、

(12) 6-[2-(メチルカルバモイル)フェニルスルファニル]-3-E-
[2-(ピリジン-2-イル)エテニル]インダゾール、

(13) 5-((Z)-5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロ-3H-イ
25 ンドール-3-イリデン)メチル)-N-((2S)-2-ヒドロキシ-3-モルホ
リン-4-イルプロピル)-2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキサ
ミド、

(14) 3-((キノリン-4-イルメチル)アミノ)-N-(4-(トリフルオ

ロメトキシ) フェニル) チオフェン-2-カルボキサミド、

(15) 6-(2, 6-ジクロロフェニル)-8-メチル-2-フェニルアミノ-8H-ピリド[2, 3-d]ピリミジン-7-オン、

(16) 2-((1, 6-ジヒドロ-6-オキソ-ピリジン-3-イルメチル) アミノ)-N-(3-(トリフルオロメチル) フェニル)-3-ピリジン-カルボキサミド、

(17) 4-(4-(4-クロロフェニルアミノ)-フロ[2, 3-d]ピリダジン-7-イルオキシメチル)-ピリジン-2-カルボキシリック アシッドメチルアミド、

10 (18) N-(3-トリフルオロメチル-4-クロロフェニル)-N'-(4-(2-メチルカルバモイルピリジン-4-イル) オキシフェニル) ウレア、

(19) 4-アミノ-5-フルオロ-3-(6-(4-メチル-ピペラジン-1-イル)-1H-ベンズイミダゾール-2-イル)-1H-キノリン-2-オン、

(20) 4-(4-(1-アミノ-1-メチル-エチル)-フェニル)-2-(4-2-モルホリン-4-イル-エチル)-フェニルアミノ)-ピリミジン-5-カルボニトリル、

(21) [6-[4-[(4-エチルピペラジン-1-イル) メチル] フェニル]-7H-ピロロ[2, 3-d]ピリミジン-4-イル)-(R)-1-フェニルエチル) アミン、

20 (22) 9-(1-メチルエトキシ) メチル-12-(3-ヒドロキシプロピル)-6H, 7H, 13H-インデノ[2, 1-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5-オン、

(23) N-(2, 4-ジフルオロフェニル)-N'-(4-[(6, 7-ジメトキシ-4-キノリル)-オキシ]-2-フルオロフェニル) ウレア、

25 (24) N-[4-(3-アミノ-1H-インダゾール-4-イル) フェニル]-N'-(2-フルオロ-5-メチルフェニル) ウレア、

(25) 2-メチル-6-[2-(1-メチル-1H-イミダゾール-2-イル)-チエノ[3, 2-b]ピリジン-7-イルオキシ]-ベンゾ[b]チオフェン

－ 3－カルボキシリック アシッド メチルアミド、

(26) (R)－1－(4－(4－フルオロ－2－メチル－1H－インドール－5－イルオキシ)－5－メチルピロロ[1, 2-f][1, 2, 4]トリアジン－6－イルオキシ)プロパン－2－オール、

5 (27) (S)－((R)－1－(4－(4－フルオロ－2－メチル－1H－インドール－5－イルオキシ)－5－メチルピロロ[1, 2-f][1, 2, 4]トリアジン－6－イルオキシ)プロパン－2－オール) 2－アミノプロパノエート、

(28) 3－[(4－モルホリン－4－イル－フェニルアミノ)－メチレン]－1, 3－ジヒドロインドール－2－オン、

10 (29) 5－[[4－[(2, 3－ジメチル－2H－インダゾール－6－イル)メチルアミノ]ピリミジン－2－イル]アミノ]－2－メチルベンゼンスルホンアミド、

(30) (3Z)－3－[6－(2－モルホリン－4－イルエトキシ)キノリン－2(1H)－イリデン]－1, 3－ジヒドロ－2H－インドール－2－オン

15 および

(31) 2－((2－((4－(4－(4－(tert-ブチル)アニリノ)フェノキシ)－6－メトキシ－7－キノリル)オキシ)エチル)アミノ)－1－エタノール

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に

20 許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項 15 に記載の方法。

46. 血管新生阻害物質が、抗 VEGF レセプター抗体である、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の方法。

47. 抗 VEGF レセプター抗体が、2C3 antibody、IMC-1121b、IMC-18F1、IMC-1C11

および IMC-2C6 からなる群から選択される少なくとも一つの抗体である、請

25 求項 46 に記載の方法。

48. 血管新生阻害物質が、抗 VEGF 抗体である、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の方法。

49. 抗 VEGF 抗体が、ベバシズマブである、請求項 48 に記載の方法。

5 0. 血管新生阻害物質が、PI88、AVE-0005、EG-3306、RPI-4610、NM-3、VGA-1155、VEGF trap および pegaptanib sodium からなる群から選択される少なくとも一つである、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

5 1. 血管新生阻害物質が、FGF レセプターキナーゼ阻害物質、PDGF レセプターキナーゼ阻害物質、EGF レセプターキナーゼ阻害物質、抗 FGF レセプター抗体、抗 PDGF レセプター抗体、抗 EGF レセプター抗体、抗 FGF 抗体、抗 PDGF 抗体および抗 EGF 抗体からなる群から選択される少なくとも一つである、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

5 2. FGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

- 10 (1) 1 - [2 - アミノ - 6 - (3, 5 - ジメトキシフェニル) - ピリド (2, 3 - d) ピリミジン - 7 - イル] - 3 - tert - ブチルウレア、
- (2) 1 - tert - ブチル - 3 - [2 - (4 - ジエチルアミノ) ブチルアミノ - 6 - (3, 5 - ジメトキシフェニル) - ピリド (2, 3 - d) ピリミジン - 7 - イル] ウレア、
- 15 (3) (S) - ((R) - 1 - (4 - (4 - フルオロ - 2 - メチル - 1H - インドール - 5 - イルオキシ) - 5 - メチルピロロ [1, 2 - f] [1, 2, 4] トリアジン - 6 - イルオキシ) プロパン - 2 - オール) 2 - アミノプロパノエート、
- (4) 4 - [4 - [N - (4 - ニトロフェニル) カルバモイル] - 1 - ピペラジニル] - 6, 7 - ジメトキシキナゾリン、
- 20 (5) 4 - アミノ - 5 - フルオロ - 3 - (6 - (4 - メチル - ピペラジン - 1 - イル) - 1H - ベンズイミダゾール - 2 - イル) - 1H - キノリン - 2 - オン、
- (6) 2 - ((2 - ((4 - (4 - (4 - (tert - ブチル) アニリノ) フェノキシ) - 6 - メトキシ - 7 - キノリル) オキシ) エチル) アミノ) - 1 - エタノール
- 25 および
- (7) (Z) - 3 - [(2, 4 - ジメチル - 5 - (2 - オキソ - 1, 2 - ジヒドロインドール - 3 - イリデンメチル) - 1H - ピロール - 3 - イル) - プロピオニック アシッド

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項 5 1 に記載の方法。

5 3. PDGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

- (1) 4- (4-メチルピペラジン-1-イルメチル) -N- [4-メチル-3-
5 [4- (3-ピリジル) ピリミジン-2-イルアミノ] フェニル] ベンゼンアミド、
- (2) 6- [2- (メチルカルバモイル) フェニルスルファニル] -3-E- [2- (ピリジン-2-イル) エテニル] インダゾール、
- (3) 1- {2- [5- (2-メトキシ-エトキシ) -ベンゾイミダゾール-1-
10 -イル] -キノリン-8-イル} -ピペリジン-4-イルアミン、
- (4) 4- [4- [N- (4-ニトロフェニル) カルバモイル] -1-ピペラジニル] -6, 7-ジメトキシキナゾリン、
- (5) 4-アミノ-5-フルオロ-3- (6- (4-メチル-ピペラジン-1-イル) -1H-ベンズイミダゾール-2-イル) -1H-キノリン-2-オン、
- 15 (6) (4-tert-ブチルフェニル) {4- [(6, 7-ジメトキシ-4-キノリル) オキシ] フェニル} メタンオン、
- (7) 5-メチル-N- [4- (トリフルオロメチル) フェニル] -4-イソキサゾールカルボキサミド、
- (8) trans-4- [(6, 7-ジメトキシキノキサリン-2-イル) アミノ] シ
20 クロヘキサノール、
- (9) (Z) -3- [(2, 4-ジメチル-5- (2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-イリデンメチル) -1H-ピロール-3-イル) -プロピオニック
アシッド、
- (10) 5- (5-フルオロ-2-オキソ-1, 2-ジヒドロインドール-3-
25 イリデンメチル) -2, 4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキシリック
アシッド (2-ジェチルアミノエチル) アミド、
- (11) 1- (4-クロロアニリノ) -4- (4-ピリジルメチル) フタラジン
および

(12) N-[4-(3-アミノ-1H-インダゾール-4-イル)フェニル]-N'-(2-フルオロ-5-メチルフェニル)ウレア

からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項51に記載の方法。

5 54. EGF レセプターキナーゼ阻害物質が、

(1) 4-(3-クロロ-4-フルオロフェニルアミノ)-7-メトキシ-6-(3-(4-モルホリノ)プロポキシ)キナゾリン、

(2) 4-(3-エチルフェニルアミノ)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)-キナゾリン、

10 (3) N-[3-クロロ-4-[(3-フルオロベンジル)オキシ]フェニル]-6-[5-[[[2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ]メチル]フラン-2-イル]キナゾリン-4-アミン、

(4) N-[4-[N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]キナゾリン-6-イル]アクリルアミド、

15 (5) (2E)-N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド、

(6) [6-[4-[(4-エチルピペラジン-1-イル)メチル]フェニル]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-イル]-(R)-1-フェニルエチル)アミン、

20

および

(7) (E)-N-{4-[3-クロロ-4-(2-ピリジニルメトキシ)アニリノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル}-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド

25 からなる群から選択される少なくとも一つの化合物、もしくはその薬理学的に許容される塩、またはそれらの溶媒和物である、請求項51に記載の方法。

55. 抗 EGF レセプター抗体が、セツキシマブ、panitumumab、matuzumab、nimotuzumab、IMC-11F8 および MDX-447 からなる群から選択される少なくとも

も一つの抗体である、請求項 5 1 に記載の方法。

5 6. 請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法において使用するためのキットであって、

5 抗 α -SMA 抗体、抗デスミン抗体、抗コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 抗体、抗カルポニン抗体、抗カルデスモン抗体および抗 PDGF レセプター抗体からなる群から選択される少なくとも一つを含む、前記キット。

5 7. 請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法において使用するためのキットであって、

抗 α -SMA 抗体を含む、前記キット。

10 5 8. 請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法において使用するためのキットであって、

15 α -SMA 遺伝子、デスミン遺伝子、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 4 遺伝子、カルポニン遺伝子、カルデスモン遺伝子および PDGF レセプター遺伝子からなる群から選択される少なくとも一つの遺伝子の転写産物である RNA の少なくとも一部に相補的な配列を含むポリヌクレオチドを含む、前記キット。

5 9. 請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法において使用するためのキットであって、

20 デスミン遺伝子の転写産物である RNA の少なくとも一部に相補的な配列を含むポリヌクレオチドを含む、前記キット。

図 1

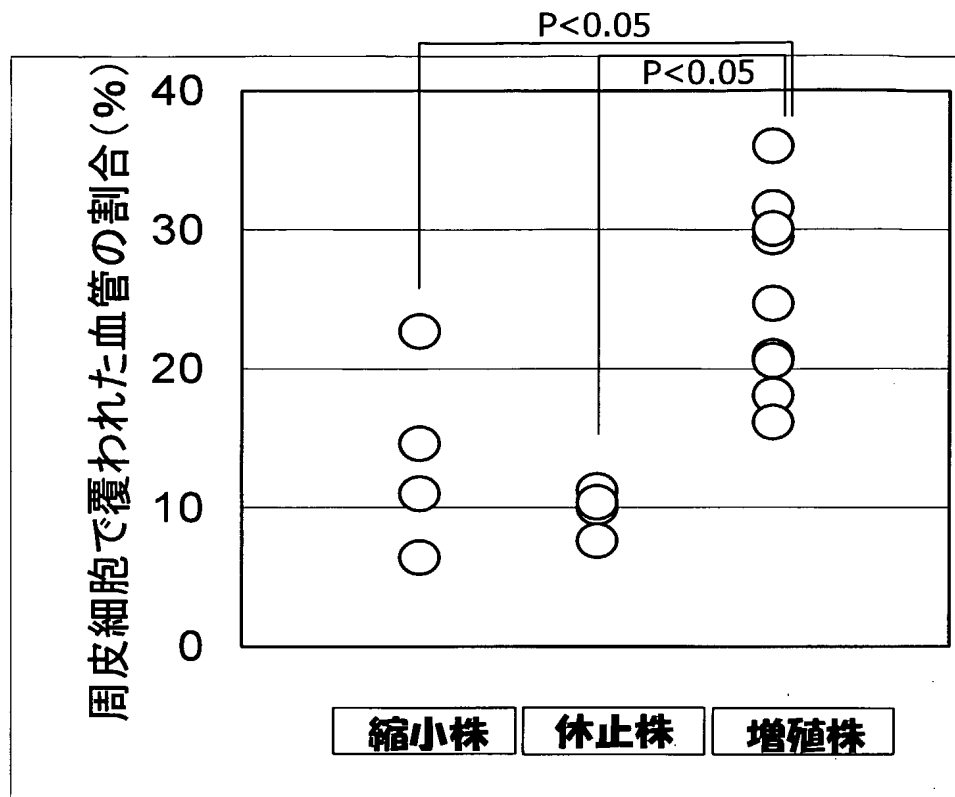


図 2

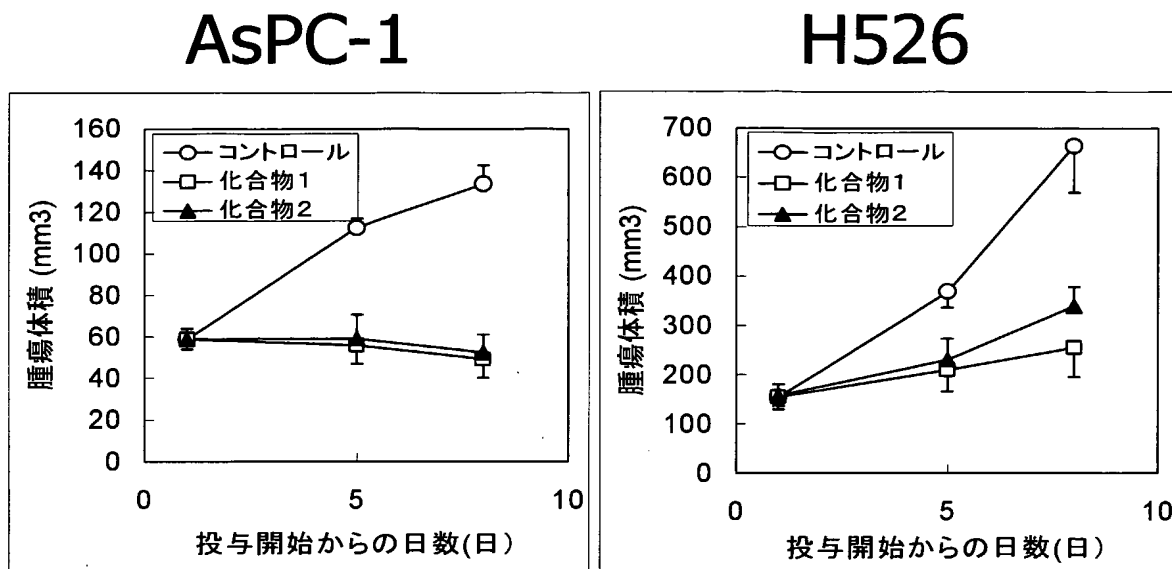
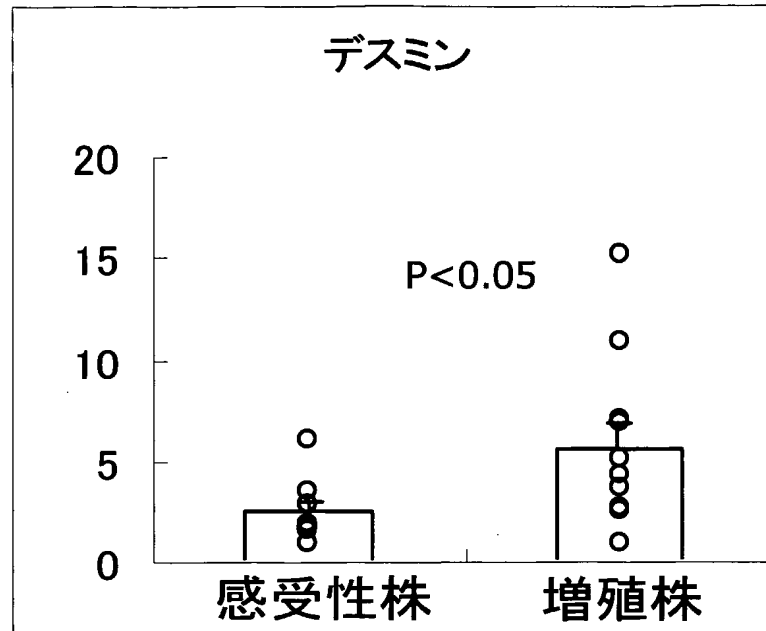


図 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/315563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/574(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/47(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/15(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/48-98, G01N33/15

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (DIALOG), JMEDPLUS (JDream2), JSTPLUS (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KURZ, "Pericytes in experimental MDA-MB231 tumor angiogenesis", Histochemistry and Cell Biology, 117 (6): pages 527 to 534, June, 2002, abstract	1-59
A	MORIKAWA et al., 'Kekkan Shinsei to Shuhi Saibo', The Cell, Vol.37, No.4, (2005 Nen 4 Gatsu), pages 164 to 168	1-59

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 August, 2006 (24.08.06)

Date of mailing of the international search report

05 September, 2006 (05.09.06)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/574(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/47(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/15(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N33/48-98, G01N33/15

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 6 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 6 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 6 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus(STN), BIOSIS(DIALOG), MEDLINE(DIALOG), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	KURZ" Pericytes in experimental MDA-MB231 tumor angiogenesis" Histochemistry and Cell Biology 117 (6): p 527-534 June, 2002 Abstract	1-59
A	森川他「血管新生と周皮細胞」 細胞 第37巻第4号(2005年4月) 第164-168頁	1-59

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 4 . 0 8 . 2 0 0 6

国際調査報告の発送日

0 5 . 0 9 . 2 0 0 6

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

山村 祥子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2

2 J

9 2 1 7